

**T.C**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**İç Hastahkları Anabilim Dalı**

**METRONOMİK TEDAVİLERDE ‘VEGF’ VE  
DİĞER PARAMETRELERİN KLİNİK GİDİŞİ  
İZLEMEKTEKİ ROLÜ**

**Deniz Ekinci**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya-2008**

**T.C**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**İç Hastalıkları Anabilim Dalı**

**METRONOMİK TEDAVİLERDE ‘VEGF’ VE  
DİĞER PARAMETRELERİN KLİNİK GİDİŞİ  
İZLEMEDeki ROLÜ**

**Deniz Ekinci**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı**  
**Prof.Dr.Burhan SAVAŞ**

“Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir”  
**Antalya-2008**

**Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

Bu çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na bağlı Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.  
18.02.2008

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Burhan SAVAŞ  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Fatih TOPÇUOĞLU  
Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü

Üye : Prof. Dr. Levent ÜNDAR  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Mustafa ÖZDOĞAN  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Hasan Şenol COŞKUN  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**ONAY**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirtilen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve .....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

18.02.2008

**Prof. Dr. Nurettin OĞUZ**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Günümüzde dünyadaki ülkelerin büyük çoğunluğunda 1. ve 2. sıklıkla insan ölümüne neden olan hastalıklar sırasıyla anjiyogenez eksikliği ve fazlalığıyla karakterize olmaktadır. VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü), anti anjiogenik tedavinin en önemli hedefidir ve insan tümörlerinin yaklaşık %60'ı tarafından salgılanır. Güçlü bir anjiogenez belirteci olan serum VEGF seviyesi bu hastalıkların klinik seyrinin tahmininde ve tedavi etkinliğinin erken değerlendirilmesinde rol oynayabilir. Anjiogenez inhibitörlerinin endotel hücreleri üzerinden etkisi, serum VEGF seviyesinin metronomik kemoterapi ve bevacizumAb (Avastin) tedavisi alan hastalar üzerinde çalışılması ile gözlemlenmiştir.

Çalışmaya metronomik kemoterapi alan 11 hasta (7 kadın, 4 erkek, yaş ortalamaları 55), bevacizumAb tedavisi alan 16 hasta (4 kadın, 12 erkek, yaş ortalamaları 55.1) dahil edilmiş, kontrol amaçlı olarak 15 sağlıklı bireydeki VEGF düzeyleride çalışılmıştır. Hastaların kemoterapi öncesi ve 3 ay sonrası serum VEGF düzeyleri analiz edilmiş ve hastaların klinik seyri ile birlikte yorumlanmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızda şu gözlemler yapılmıştır;

1) Metronomik tedavi alan metastatik tümörlü hastaların tedavi öncesi VEGF düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksektir. 2) BevacizumAb + kemoterapi alan metastatik tümörlü kolon kanserli hastaların tedavi öncesi VEGF düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksektir. 3) Metronomik tedavi alan daha önce birden fazla kemoterapi almış hastaların VEGF düzeyleri bevacizumAb alan daha önce kemoterapi almamış hastalardan daha yüksektir. 4) BevacizumAb ve metronomik tedavi ile VEGF düzeyleri düşmüştür. Özellikle VEGF mAb uygulamasından 3 ay sonra hiçbir hastada VEGF düzeyi normal sınırlar üzerinde görülmemiştir. Sonuç olarak metastatik kanserli hastalarda VEGF düzeyinin yükseldiği ve anjiyogeneze yönelik tedaviler ile bu düzeylerin düşebildiği gözlemlenmiştir. Düşen VEGF düzeylerinin klinik anlamlılığı için daha çok sayıda hasta ile yapılacak ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** VEGF, metronomik kemoterapi, bevacizumAb

## ABSTRACT

Currently the first and second leading cause human death are characterized by lack of angiogenesis and excess of angiogenesis in most of the countries in the world. VEGF (vascular endothelial growth factor) is the most important target of the anti-angiogenic treatment and it is secreted by 60% of human tumours. Serum VEGF level, being a strong angiogenesis marker, can have a role in assessing the clinical progress of these illnesses and in the early evaluation of the treatment efficiency. The effect of angiogenesis inhibitors on endothelium cells is observed by studying the serum VEGF level of patients on metronomic chemotherapy and bevacizumAb (avastin) treatment.

The study includes 11 patients who receive metronomic chemotherapy (7 female, 4 male, medium age is 55), 16 patients who receive bevacizumAb treatment (4 female, 12 male, medium age is 55.1) and also VEGF levels of 15 healthy individuals are studied as control. Patients serum VEGF levels before chemotherapy and 3 months after chemotherapy are analyzed and been tried to commented on with the patients of clinical progress. Some characteristic of clinical progress have been attempted to be correlated with these serum VEGF levels.

The following observations have been made;

1) VEGF levels prior to the treatment of the patients with metastatic tumour who receive metronomic treatment are higher than the healthy controls. 2) VEGF levels prior to the treatment of the patients with metastatic colon cancer who receive bevacizumAb + chemotherapy are higher than the healthy controls. 3) VEGF levels of the patients who receive metronomic treatment and had received chemotherapy are higher than the VEGF levels of the patients who receive bevacizumAb and 4) VEGF levels decreased with bevacizumAb and metronomic treatment.

**Key words:** VEGF, metronomic chemotherapy, bevacizumAb

## TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın gerçekleőmesinde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danıőmanım Prof. Dr. Burhan Savaş' a, laboratuvar gereçleri konusunda yardımı ile Doç. Dr. Mustafa Özdoğan' a, hasta klinik verilerinin ve hasta serumlarının eldesinde Uzm. Dr. Ayőegül Kargı ve Uzm. Dr. Hasan Mutlu' ya, çalışma arkadaőlarım olan ve desteklerini esirgemeyen Kemoterapi Ünitesi personeline, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eőim, ailem ve İmmünohematoloji yüksek lisans programındaki arkadaőlarıma teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
<b>ÖZET</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	viii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	ix
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	x
<b>GİRİŞ ve AMAÇ</b>	1-2
<b>GENEL BİLGİLER</b>	3-15
2.1. VEGF' nin Biyolojik Aktiviteleri	3-4
2.2. VEGF İzofomları	5
2.3. VEGF Gen İfadesinin Düzenlenmesi	6
2.4. VEGF Reseptörleri	7-9
2.5. Flt-1 ve Flk-1 / KDR Tirozin Kinazlar	10
2.6. Solid Tümörlerde ve Hematolojik Malignitelere VEGF' nin Rolü	10-11
2.7. Metronomik Kemoterapi	11-12
2.8. Bevacizumab (Avastin)	12-13
2.9. Metronomik Kemoterapi Değerlendirme Metodları	13-14
<b>MATERYAL VE METOT</b>	15-17
3.1. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ) yöntemi	15
3.2. Kullanılan laboratuvar malzemeleri	16
3.3. İstatistik	17
<b>BULGULAR</b>	18-29
4.1. Hasta Klinik Verileri	21-30
4.1.1. Metronomik Tedavi Alan Hastalar	21-25
4.1.2. Bevacizumab Monoklonal Antikor + Kemoterapi Alan Hastalar	25-28
4.2. Kontrol Amaçlı Kullanılan Bireylerin Klinik Verileri	28-29
<b>TARTIŞMA</b>	30-32
<b>SONUÇLAR</b>	33
<b>KAYNAKLAR</b>	34-40
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	41

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>aFGF</b>	: Asidik fibroblast growth faktör
<b>AMD</b>	: Yaş ilişkili masküler dejenerasyon
<b>bFGF</b>	: Bazik fibroblast growth faktör
<b>BSO</b>	: Bilateral Salpingoooferektomi
<b>CEA</b>	: Karsinoembriyonik antijen
<b>CEC</b>	: Dolaşımdaki endotel hücreler
<b>CEP</b>	: Dolaşımdaki endotel progenitör hücrele
<b>ECM</b>	: Ekstrasellüler matriks
<b>ECs</b>	: Endotel hücreleri
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>Flk-1</b>	: Fetal liver kinase-1
<b>Flt-1</b>	: Fms-like tyrosine kinase
<b>HIF-1</b>	: Hipoksi ile uyarılan faktör 1
<b>HB-EGF</b>	: Heparin-Binding Epidermal Growth Factor
<b>ICAM-1</b>	: Intercellular adhesion molecule 1
<b>IGF-I</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü – I
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6
<b>KDR</b>	: Kinase domain region
<b>LSECs</b>	: Karaciğer sinüsoidal endotel hücreleri
<b>mAb</b>	: Monoklonal Antikor
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>MTED</b>	: Maksimum tolere edilebilen doz
<b>NK</b>	: Natural killer
<b>PAI-1</b>	: PA inhibitör 1
<b>PDGF</b>	: Trombosit türevli büyüme faktörü
<b>Pq</b>	: pikogram
<b>PIGF</b>	: Plasental growth faktör
<b>RECIST</b>	: Klasik Cevap Parametreleri
<b>TGF-<math>\alpha</math></b>	: Transforming growth faktör- $\alpha$
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming growth faktör- $\beta$
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrozis faktör- $\alpha$
<b>TAH</b>	: Total Abdominal Histerektomi
<b>uPAR</b>	: Ürokinaz reseptörü
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörü
<b>VCAM-1</b>	: Vascular cell adhesion molecule 1
<b>VLA-4</b>	: Very late antigen-4
<b>VHL</b>	: Von Hippel-Lindau
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörü
<b>VEGFR-1</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 1
<b>VEGFR-2</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 2
<b>VEGFR-3</b>	: Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 3
<b>5 FU</b>	: 5-fluorouracil



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 2.1.</b> VEGF izoformları ve VEGF reseptörleri ile etkileşimi	<b>5</b>
<b>Şekil 2.2.</b> Karaciğer sinüsoidal endotel hücrelerinde VEGFR-1 ve VEGFR-2' nin farklı etkileri	<b>6</b>
<b>Şekil 2.3.</b> Farklı hücre tiplerinde VEGF reseptör tirozin kinazların rolü	<b>8</b>
<b>Şekil 2.4.</b> Tümör, hipoksi, düşük pH ve diğer faktörler sonucu VEGF salınımı	<b>10</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Çizelge 2.1.</b> Metronomik kemoterapi alan hastaların yaş, tanı, kemoterapi öncesi ve sonrası serum VEGF düzeyleri	<b>18</b>
<b>Çizelge 2.2.</b> BevacizumAb tedavisi alan hastaların yaş, tanı, kemoterapi öncesi ve sonrası serum VEGF düzeyleri	<b>19</b>
<b>Çizelge 2.3.</b> Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum VEGF düzeyleri	<b>19</b>
<b>Çizelge 2.4.</b> Hastaların ortalama, standart sapma ve minimum-maximum VEGF verileri	<b>20</b>
<b>Çizelge 2.5</b> Sağlıklı bireylerin ve hastaların ortalama VEGF düzeyleri	<b>20</b>

## GİRİŞ ve AMAÇ

Konvansiyonel sitotoksik ilaçlar kanser tedavisinde maksimum tolere edilebilen dozda (MTED) kullanılabilmek için dizayn edilmişlerdir. MTED kullanılan kemoterapi sınırlı sayıdaki kanserli hastalarda şifayla, önemli sayıdaki hastada da hastalık kontrolü ile sonuçlanmasına karşın belirgin uzun ve kısa dönem komplikasyonlarına neden olmaktadır. Sitotoksik ilaçların doz kısıtlayıcı yan etkilerine ulaşmasına, dolayısıyla istirahat dönemlerine gerek kalmayacak derecede düşük dozlarda sürekli olarak verilmesiyle antikanser etkinliklerinin artırıldığı alternatif bir kullanım biçimi giderek daha çok ilgi çekmektedir. Bu kemoterapi şemaları metronomik kemoterapi olarak adlandırılmaktadır. Metronomik tedaviler tümör hücrelerine oranla çok daha yavaş proliferen olan aktive endotel hücrelerini hedef alarak yetersiz neovaskülarizasyon sonucunda tümör hücrelerinin büyümesini inhibe etmektedirler. Metronomik kemoterapiye ya da diğer yöntemlere dayanan anti-anjiogenik tedavinin kanser hastalarında faydalı olduğu ancak son zamanlarda gösterilebilmiştir (1,2,3).

Aslında çeşitli kanserlerde daha önceleri idame kemoterapiler olarak adlandırılan çeşitli protokoller de pekala metronomik kemoterapi olarak tanımlanabilir. Lösemilerdeki başarılı günlük merkaptopurin + haftalık methotreksat, nöroblastomlardaki etkili günlük siklofosfamid + haftalık vinkristin, Wilms tümörlerindeki haftalık vinkristin, akciğer adenokarsinomlarında UFT şemaları bunlar arasındadır (4,5,6,7). Ampirik olarak geliştirilen çeşitli tedavilerin etkinlik mekanizmalarının daha sonraki bilimsel izahlarına bir örnek de metronomik-anti-anjiogenik tümör kontrolü teorisi olacak gibi görünmektedir. Dörde bir orandaki urasil:tegafurdan oluşan UFT in vivo olarak 5FU, gama-hidroksibutirat ve gama-butirolaktona dönüşür. Her üç metabolitinde anti-anjiogenik özellikleri olduğu prelinik modellerde gösterilmiştir (8,9). İki sene süreyle hergün 250 mg/m<sup>2</sup> oral UFT alan akciğer adenokarsinomlarında 5-8 sene sonra belirgin sağkalım avantajı olduğu gözlenmiştir (7). Grade III toksisite oranı ise sadece %2dir. Yarar özellikle yüksek mikrodamar yoğunluğu ve VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü) ifadesi olan tümörlü hastalarda görülmektedir. Haftada bir anti-VEGF monoklonal antikoru bevacizumAb + hergün oral siklofosfamid kullanımıyla standart kemoterapilere dirençli over ve primer peritoneal kanserlerde %80 klinik yarar (kısmi yanıt +stabil yanıt) ve 5.8 ay progresyonsuz sağkalım elde edilmiştir (10).

VEGF vasküler permeabilite faktörü olarak da bilinir. Dvorak ve arkadaşları mikrovasküler permeabilitede artışın tümörler ve yaralanmalar ile ilişkili anjiyogenezde çok benzediğini ileri sürmüşlerdir (11,12). Melder ve arkadaşları VEGF' in endotel hücrelerinde VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) ve ICAM-1' in (intercellular adhesion molecule 1) ifadesini ilerlettiğini göstermişlerdir.

Bu uyarım endotel hücrelerine NK (natural killer) hücrelerinin yüzeyindeki VLA-4 (very late antigen-4) ve CD 18 ile endotelial VCAM-1 ve ICAM-1' in özgül etkileşimi ile aktive NK hücrelerinin adezyonu ile sonuçlanabilir. Bu etkiler tümör damarlanmasına karşı IL-2 ile aktive olmuş NK hücrelerinin önceden gözlemlenen tercihlili adezyonu için bir açıklama sağlayabilir (13,14). Gabrilovich ve arkadaşları dendritik hücreler gibi profesyonel antijen sunan hücrelerin olgunlaşmasında VEGF' in bir inhibitör etkiye sahip olabileceğini belirtmişlerdir (15). Bu bulgular VEGF' in tümör büyümesini kolaylaştırabileceğini, ayrıca bir immün yanıtın uyarımından tümörün kaçmasına olanak sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Moleküler biyolojideki ilerleme ile onkolojik tedavi yaklaşımlarında devrim gerçekleşmektedir. Anjiogenez inhibitörleri endotel hücrelerine etki ederek tümör progresyonunu engellemektedir. Anjiogenez inhibitörlerinin endotel hücreleri üzerinden etki etmelerinin sonuçları, güçlü bir anjiogenez belirteci olan serum VEGF seviyesinin metronomik kemoterapi ve bevacizumAb (Avastin) tedavisi alan hastalar üzerinde çalışılması ile gözlemlenebilmesi mümkün olabilir.

Anti-anjiyogenik tedaviyi yakın gelecekte klasik tedavi yöntemleri arasına sokacağı tahmin edilen nedenlere şunlar örnek olarak verilebilir; 1) Doğrudan tümör hücrelerini hedefleyen ilaçlara karşı gelişen sıklıkta direnç oluşmaması, 2) Tümör endotel hücrelerinin normal endotel hücrelerinden 50-100 kat daha hızlı bölünmeleri, 3) Aktif endotel hücrelerinin üzerinde bulunan bazı moleküler işaretlerin aktif olmayan endotel hücrelerinin üzerinde olmaması, 4) Yetişkinlerde anjiogenesisin sınırlı olmasından dolayı anti anjiyogenik ilaçlara bağlı yan etkilerin çok az görülmesi, 5) Endotel hücrelerine kan dolaşımı ile kolay ulaşılması, 6) Bir endotel hücrelerinin yaklaşık 50 tümör hücrelerini besleyebilmesi dolayısıyla birkaç mikro damarın tahrip edilmesi ile çok sayıda tümör hücrelerinin öldürülmesi, 7) Endotel hücrelerinin besledikleri tümör hücrelerinden 4 gün önce apoptozise uğramaları gibi nedenlerin anti-anjiyogenik tedaviyi yakın gelecekte klasik tedavi yöntemleri arasına sokacağı tahmin edilmektedir (1). Bu konudaki en önemli sorun tedavi etkinliğinin klasik cevap parametreleri (RECİST) ile izlenememesidir. Dolayısıyla bu etkinliği izleyebilecek basit parametrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Tezimiz bu ihtiyaca ucuz ve basit bir metodla cevap vermeyi amaçlamaktadır.

## GENEL BİLGİLER

Damarsal gelişim, embriyogenez sırasında organ gelişimi ve farklılaşması için temel bir gerekliliktir. Yetişkinlerde de yara iyileşmesi ve yeniden yapılanma için vasküler gelişim gereklidir (16). Anjiyogenez ayrıca proliferatif retinopati, yaş ilişkili masküler dejenerasyon (AMD), tümörler, romatizmal kemik iltihabı gibi bir takım rahatsızlıkların patogeneğinde ilişkili bulunmuştur (16).

Tümörle ilişkili neovaskülerizasyon sistemik dolaşım ile sürekli olarak devam ederek tümör hücrelerinin kritik büyüme avantajlarına ve metastatik yayılımına yardım eder (17,18). Bu duruma uygun olarak tümörlerde mikrodamarların dansitesi ile sağkalım arasında negatif korelasyon mevcuttur (19). Benzer biçimde vaskülarite ve çeşitli tümörlerin invaziv davranışları arasında bir korelasyon gösterilmiştir (20,21).

Anjiyogenezin potansiyel düzenleyicileri için yapılan araştırmalar birçok aday ortaya çıkarmıştır. Asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF), transformine edici büyüme faktörü-alfa (TGF- $\alpha$ ), transformine edici büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ), hepatosit büyüme faktörü, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), anjiyogenin, interlökin-8 (IL-8) başlıcalarıdır. Bu moleküller anjiyogenezi ilerletebilme kapasitesinde olsalar da kan damarları oluşumunun fizyolojik veya patolojik düzenlenmesinin bu moleküllerle tamamen uyum gösterdiğini söylemek zordur (16).

Çeşitli laboratuvarlarda yapılan çalışmalar ile normal ve anormal anjiyogenezin düzenlenmesinde vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) merkezi rolü aydınlatılmıştır (22). Özellikle tek bir VEGF allelinin dahi kaybının embriyonik ölüm ile sonuçlanması bu faktörün vasküler sistemin gelişimi ve farklılaşmasındaki rolünü ortaya koymaktadır (23,24).

### 2.1. VEGF' nin Biyolojik Aktiviteleri

VEGF arterlerden, venlerden ve lenflerden gelen mikro ve makrovasküler endotel hücreleri için kuvvetli bir mitojendir, fakat sürekli üretilmez ve diğer hücre tipleri için kayda değer bir mitojenik aktiviteye sahiptir (25). VEGF *in vitro* modellerde anjiyogenezi ilerletir, kollojen hücrelere ve kapiller benzeri yapılara karşı mikrovasküler endotel hücreleri indükler. Ayrıca, VEGF bir kollojen jelde sıçan aortik halkalardan yan dalların oluşumunu uyarır (26,27). Benzer şekilde insülin benzeri büyüme faktörü – I (IGF-I) veya trombositten gelen büyüme faktörü (PDGF) geniş fibroblastik çoğalma ile birlikte endotel hücrelerini uyarır (27). VEGF serin proteaz ürokinaz tip ve doku tip plazminojen aktivatörlerin (PA) ifadesini uyarır.

Ayrıca, dana mikrovasküler endotel hücre kültüründe PA inhibitör 1'in (PAI-1) ifadesini artırır (28). Üstelik VEGF insan göbek veni endotel hücrelerinde metalloproteinaz interstiyal kollajenazın ifadesini de artırır (29). VEGF tarafından kollajenaz ve PA'nın eş zamanlı uyarımı bir prodegratif çevre ile süreklilik arz etmektedir ki bu durum endotel hücrelerin göçünü ve dallanmasını kolaylaştırmaktadır. Pepper ve Montesano PAI-1'in bir negatif regülatör adım sağladığını ileri sürmektedirler. Bu adım proteolitik sürecin ayarlanmasına hizmet eder (30). Diğer bir çalışma VEGF'nin vasküler endotel hücrelerde ürokinaz reseptörün (uPAR) ifadesini ilerlettiğini göstermiştir (31). Bu bulgular VEGF'nin proanjyogenik aktiviteleri ile tutarlıdır.

VEGF ayrıca vasküler geçirgenlik faktörü olarak bilinir. Dvorak ve arkadaşları mikrovasküler geçirgenlikte artışın tümörler ve yaralanmalar ile ilişkili anjiyogenezde çok önemli bir basamak olduğunu ileri sürmüşlerdir (11,12). Bu hipoteze uygun olarak damar gelişimi sürecinde VEGF'nin asıl işlevi plazma protein sızıntısının uyarımıdır. Diğer bir çalışma da ayrıca VEGF'nin endotel hücrelerinde delikler açılmasını uyarıcı bir faktör olabileceğini düşündürmektedir (32). Vasküler endotelium üzerine VEGF'nin diğer bir ilave etkisi heksos transportun uyarımıdır. Dana taşınma endotel hücrelerinin VEGF veya TNF- $\alpha$  ya maruz kalması heksos transportun oranında önemli bir artışla sonuçlanır (33).

Melder ve arkadaşları VEGF'nin endotel hücrelerinde VCAM-1 ve ICAM-1'in ifadesini ilerlettiğini göstermişlerdir. Bu uyarım endotel hücrelerine NK hücrelerinin yüzeyindeki VLA-4 ve CD 18 ile endotelial VCAM-1 ve ICAM-1'in özgül etkileşimi ile aktive NK hücrelerinin adezyonu ile sonuçlanabilir. Bu etkilerin tümör damarlanmasına karşı IL-2 ile aktive olmuş NK hücrelerinin önceden gözlemlenen tercihli adezyonu için bir açıklama sağlayabilir (13,14).

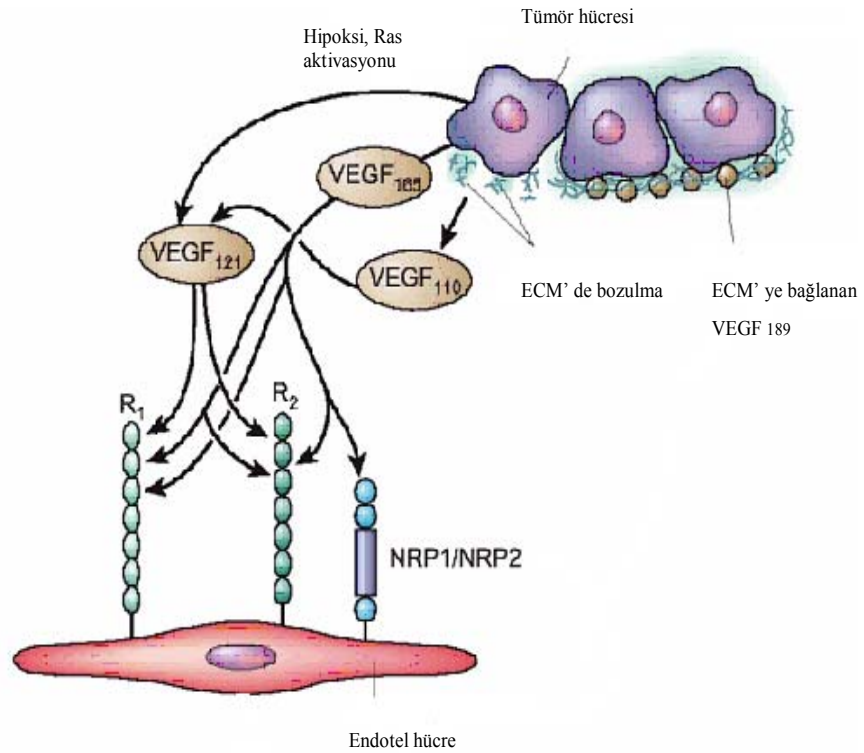
VEGF'nin belirli hücrelerde düzenleyici etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Clauss ve arkadaşları VEGF'nin monosit kemotaksisini ilerletebileceğini göstermişlerdir (34). Broxmeyer ve arkadaşları VEGF'nin bir koloni uyarıcı faktör ile uyarılan olgun granülosit-makrofaj progenitör hücreleri koloni formasyonuna yönlendirdiğini ifade etmişlerdir (35). Gabrielovich ve arkadaşları dendritik hücreler gibi konukçu profesyonel antijen sunan hücrelerin olgunlaşmasında VEGF'nin bir inhibitör etkiye sahip olabileceğini belirtmişlerdir (15). Bu bulgular VEGF'nin tümör büyümesini kolaylaştırabileceğini, ayrıca bir immün yanıtın uyarımından tümörün kaçmasına olanak sağlayabileceğini düşündürmektedir.

VEGF *in vitro* doz bağımlı olarak vazodilatasyonu uyarır, sıçanlarda taşikardi, hipotansiyon ve geçici intravenöz enjeksiyonla kardiyak verimde bir azalmaya neden olur. VEGF *in vitro* izole sıçan kalbinde kontraktilite veya hızında doğrudan etkiye sahip değildir (36). Fakat bu hemodinamik etkiler sadece VEGF'ye özgü değildir; aFGF ve bFGF gibi diğer anjiyogenik faktörlerde nitrik oksit aracılı vazodilatasyon ve hipotansiyonu uyurabilir (37).

## 2.2.VEGF İzofomları

İnsan VEGF geni 8 ekzon ve 7 introndan oluşmaktadır. Alternatif ekzon kesimi başlangıçta 4 farklı izoform şeklinde sonuçlanır (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>). Sırası ile 121, 165, 189 ve 206 amino asite sahiptirler. VEGF<sub>165</sub> predominant izoformdur. Ekzon 6 ile kodlanan kısımdan yoksundur. VEGF<sub>121</sub>'de ekzon 6 ve 7' den kodlanan kısımlar mevcut değildir. Daha az sıklıkla oluşan alternatif kesim varyantları ayrıca ifade edilmiştir. Bunlar VEGF<sub>145</sub> ve VEGF<sub>183</sub>'tür(42) (şekil 2.1).

İnsandaki doğal VEGF 45 kDa bir heparin bağlı homodimerik glikoproteindir. Doğal VEGF' in özellikleri VEGF<sub>165</sub>' in özellikleri ile uyuşmaktadır. VEGF<sub>121</sub> heparin bağlamayan bir asidik polipeptittir. VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub> yüksek derecede baziktir ve yüksek affinite ile heparin bağlarlar. Fakat VEGF<sub>121</sub> rahatça yayılabilen bir proteinken, VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub>' nin hemen hemen tamamı ekstrasellüler matrikste (ECM) yer alır (38). VEGF<sub>165</sub> ara özelliklere sahiptir. Salgılanır fakat önemli kısmı hücre yüzeyinde ve ECM' de kalır. VEGF' nin heparin bağlayan bölgesinin kaybı önemli bir mitojenik aktivite kaybı ile sonuçlanır (38).

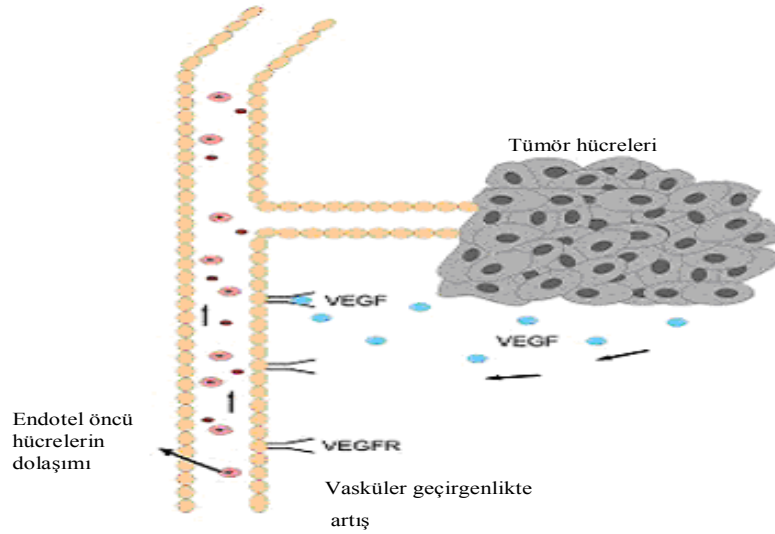


Şekil 2.1 VEGF izoformları ve VEGF reseptörleri ile etkileşimi (Ferrara 2003).

### 2.3. VEGF Gen İfadesinin Düzenlenmesi

**Hipoksi:** Oksijen stresi çeşitli genlerin ifadesinin düzenlenmesinde anahtar bir role sahiptir. VEGF mRNA ifadesi çeşitli patofizyolojik koşullar altında düşük oksijene maruz kalma sonucu uyarılır. Hipoksi ile uyarılan faktör 1 (HIF-1), hipoksi yanıtının anahtar bir aracıdır (16). Yakın zamanlı çalışmalar HIF-1 bağımlı hipoksi yanıtında von Hippel-Lindau (VHL) tümör supresör geninin üretiminin önemli rolünü ortaya çıkarmıştır. VHL geni, VHL sendromlu hastalarda inaktiftir. Bu sendrom retina ve beyincikte kapiller hemanjiyoblastomalar ve sporadik berrak hücreli renal karsinomalar ile karakterize edilir. Bir VHL mutanlığı ifade eden renal hücre karsinoma hücrelerinin yatağındaki endotel hücrelerinin mitojenik aktivitelerinin çoğu VEGF' e karşı antikolar ile nötralize edilir (39). VHL proteininin bir fonksiyonu VEGF ve diğer hipoksi durumunda uyarılan genlerin negatif düzenlenmesini sağlamaktır. HIF-1, VHL-noksan renal karsinoma hücre hatlarında aktiftir (40).

**Büyüme Faktörleri ve Onkogenler:** Epidermal büyüme faktörü, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , keratinosit büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-1, FGF ve trombositin gelen büyüme faktörü gibi çeşitli majör büyüme faktörleri VEGF mRNA ifadesi ile düzenlenir ki bu durum bazı faktörlerin mikroçevrede salınan VEGF' nin lokal hipoksi ile birlikte parakrin veya otokrin olarak salgılandığını düşündürmektedir.



**Şekil 2.2.** Tümör, hipoksi, düşük pH ve diğer faktörler sonucu VEGF salınımı (Otrock 2007).

Bu duruma ilave olarak, IL- $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler sinoviyal fibroblastlarında içeren bazı hücre tiplerinde VEGF' nin ifadesini uyarır. Bundan



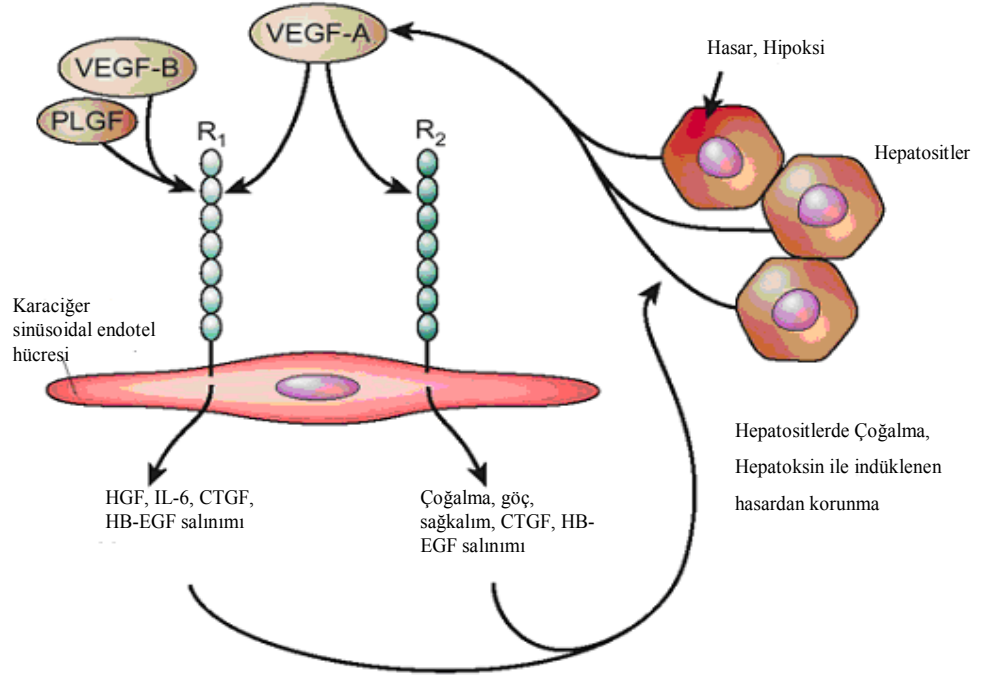
dolayı VEGF inflamatuvar hastalıklarda anjiyogenezin ve permeabilitenin bir aracısı olabilir (38) (şekil 2.2). Spesifik dönüşüm olayları ayrıca VEGF gen ifadesinin uyarımı ile sonuçlanır. Onkojenik mutasyonlar veya Ras' in amplifikasyonu VEGF düzenlenmesine öncülük eder. Bu çalışmalar *in vivo* tümör büyümesi için mutant Ras bağımlı VEGF ifadesinin gerekliliğini göstermektedir (41).

#### 2.4. VEGF Reseptörleri

**VEGFR-1:** 7 hücre dışı immünglobulin homoloji bölgesi, tek bir transmembran geçiş bölgesi ve bir hücre içi tirozin kinaz bölgesinden oluşur. VEGFR-1, VEGF-A, VEGF-B ve PlGF ile yüksek affiniteli bağlanır. Gelişim esnasında, VEGFR-1 endotelyumda ve anjiyoblastlarda önce ifade edilir (42). VEGFR-1 endotel hücrelerinde (ECs), osteoblastlarda, monosit / makrofajlarda, plasental trofoblastlarda, renal mezenşial hücrelerde ve ayrıca bazı hematopoietik hücrelerde ifade edilir. VEGFR-1 ifadesi HIF-1 ( hypoxia – inducible factor – 1 ) bağımlı mekanizma ile hipoksi tarafından düzenlenir (38).

Hayvan deneyleri VEGFR-1' in anjiyogeneziste kritik rolünü göstermiştir (43). Diğer çalışmalar VEGFR-1' in monosit göçünde, EC progenitörlerinin olgunlaşmasında ve natural killer hücrelerinin adheziv özelliklerinin artışında aktif fonksiyonel role sahip olduğunu göstermektedir (44,45). Karaciğer sinüsoidal endotel hücrelerinde (LSECs) VEGFR-1' in yeni bir fonksiyonu için delil sunulmuştur (42, 46), (Şekil 2.2). VEGFR-1 aktivasyonu LSECs' te hepatosit büyüme faktörünün, IL-6' nın ve diğer hepatotropik moleküllerin parakrin salınımı ile sonuçlanmaktadır. Sonuç olarak, hepatositler LSECs ile kültürleri yapıldığında çoğalmaları için uyarılmaktadırlar. VEGF hepatositler üzerine doğrudan mitojenik etkiye sahip değildir. Yakın zamanlı çalışmalar hematopoiesis ve endotel progenitörlerin olgunlaşmasında VEGFR-1' in etkilerini vurgulamaktadır (47).

Doğal olarak oluşabilen VEGFR-1' in çözünür formu VEGF ile uyarılan EC çoğalmasını inhibe eder. Bu çözünür reseptör VEGF-A veya PlGF' in etkili spesifik antagonisti olarak rol oynayabilir. Çözünür VEGFR-1 astrosit tümörleri ve meme kanserini içeren çeşitli tümörlerde ifade edilir (48,49).



**Şekil 2.3** Karaciğer sinüsoidal endotel hücrelerinde VEGFR-1 ve VEGFR-2' nin farklı etkileri (Ferrara 2003).

**VEGFR-2:** İlk kez 1991' de Terman ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir ve 'kinase-insert domain containing receptor' (KDR) olarak adlandırılmıştır. Fare VEGFR-2 geni bağımsız iki araştırma grubu tarafından izole edilmiş ve flk-1 olarak adlandırılmıştır (38). VEGFR-2 yedi immünglobulin benzeri bölge, bir transmembran bölgesi ve yaklaşık 70 amino asitlik bir tirozin kinaz bölgesinden oluşur. Hücre içinde VEGFR-2 proteini bir 150 kDa' luk protein olarak üretilir ve glikolizasyon ile 200 kDa' a çıkar. Bu molekül bir ileri glikolizden sonra 230 kDa' luk bir formda hücre yüzeyinde ifade edilir (25,42).

VEGFR-2, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D ve VEGF-E' yi bağlar. Endotel hücreleri dışında ayrıca nöron hücrelerinde, osteoblastlarda, megakaryositlerde ve hematopoietik kök hücrelerde ifade edilir. VEGFR-2 aktivasyonu, Raf-MEK-ERK yoluyla aktivasyonu ile endotel hücre büyümesini uyarır (50).

İnsan squamoz hücre karsinomu hücre hattının bir fare modelinde, VEGF sinyalinin bloke edilmesi epitelial tümör fenotipinin stromal normalizasyon yönünde kayması ile sonuçlanmıştır (51). VEGFR-2 antianjiyogenik aracılık için bir merkezi moleküler hedefi simgelemektedir. Çünkü endotel hücre büyümesinde ve göçünde

çok önemli bir yere sahiptir. Li ve arkadaşları VEGFR-2' nin moleküler inhibisyonunun tümör yanıtını artırabileceğini göstermişlerdir (52).

**VEGFR-3:** Endotel hücre reseptör tirozin kinazların bir üyesidir. Sadece altı Ig-homoloji bölgesine sahiptir. VEGFR-3 tercihi olarak VEGF-C ve VEGF-D' ye bağlanır. İnsanlarda, VEGFR-3 geninin alternatif kesilimi ile VEGFR-3' ün 2 izoformu meydana gelir ve bu izoformların C- terminalleri farklıdır. VEGFR-3 örneğin; perifer solid tümörlerde ve vasküler tümörlerdeki gibi patolojik koşullarda kan vasküler endotel hücrelerinde yeniden düzenlenir (16,38). Bu reseptör vasküler tümörlerde geniş çapta yayılmıştır ve vasküler neoplazmaların endothelial hücre farklılaşmasının bir belirteci olarak kararlaştırılabilir. Yakın zamanda VEGFR-3' ün korneal transplantasyonun bir deneysel modelinde adaptif immüneyi düzenlediği gösterilmiştir (53).

İnsanlarda VEGFR-3 ifadesi kronik inflamatuvar yaralardaki kan damarı endotelyumunda artırılır ve yara iyileşmesinde geçici lenfanjiyogenezis ile uyumludur. Bu sonuçla, VEGFR-3' ün kardiyovasküler gelişimde embriyogeneziste primer vasküler ağın oluşumunda ve yetişkinlerde lenfanjiyogeneziste çeşitli roller oynadığına inanılmaktadır. Yakın zamanda, Jennbacken ve arkadaşları VEGFR-3 ve VEGF-C' nin artan ifadesinin prostat kanserinin ilerlemesinde ve lenf nodlarına metastazlarında rol oynadığını göstermişlerdir (54).

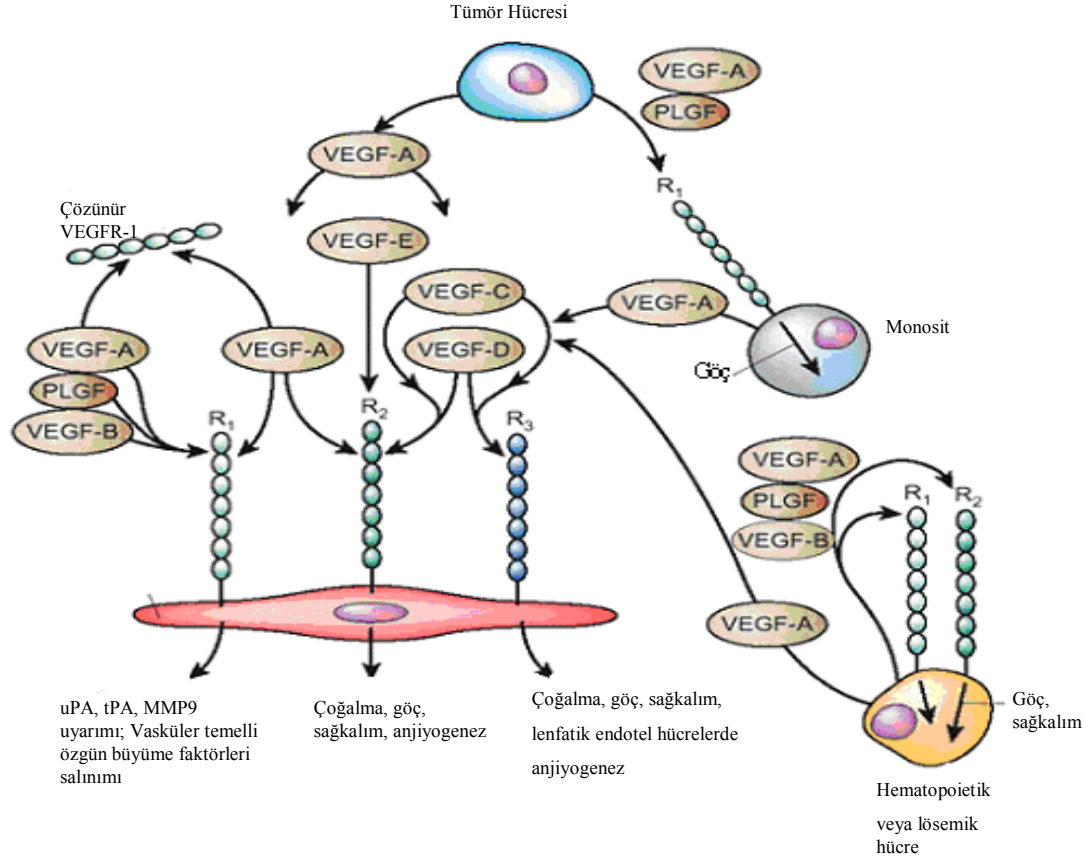
VEGFR-3 aktivasyonu ve ligandlarındaki artış melanoma ve meme kanserini de içeren belirli neoplastik şartlarda gözlemlenmiştir. Buna ilave olarak, VEGFR-3' ün bloke edilmesi önemli derecede lenfanjiyogenezisi ve lenf nodu metastazlarını inhibe etmektedir. Bu nedenle özgün inhibitörler ile VEGFR-3' ün bloke edilmesi yeni lenfatik büyümeyi inhibe edebilir (55).

**Nöropilin NP-1 ve NP-2:** Nöropilin NP-1 başlangıçta semaforin / kollapsinler için bir reseptör görevi gören 130-140 kDa ağırlığında hücre yüzey glikoproteini olarak tanımlanmıştır. Semaforin / kollapsinler aksonal ve nöronal gelişimde itici yardım sinyalleri biçiminde hizmet ederler. NP-2 VEGF-A, VEGF-C ve PIGF bağlarken NP-1 VEGF-A, VEGF-B ve PIGF bağlar. Embriyonik gelişim esnasında NP-1 nervus, kardiyovasküler ve iskelet sistemlerinde ifade edilirken, yetişkinlerde ayrıca endotel hücrelerinde, tümör hücrelerinde, akciğer, kalp, karaciğer, böbrek, pankreas, osteoblastlar ve kemik iliği stromal hücrelerinde ifade edilir (16,38,42). NP-2' de buna benzer bir ifade örneği gösterir. İnsanlarda NP-1 kromozom 10' da, NP-2' de kromozom 2' de lokalizedir. Her iki gende 17 ekzondan meydana gelir (38).

NP-1, VEGF-A-VEGFR-2 etkileşimini artıran bir ko-reseptör biçiminde rol oynar, artan *in vivo* tümör anjiyogenezinde VEGFR-1 ile kompleksler oluşturur. Çözünür NP-1 endotelyuma, tümör hücrelerine VEGF<sub>165</sub> bağlanmasını ve endotel hücrelerinde VEGFR-2' nin VEGF<sub>165</sub> ile uyarılan tirozin fosforilasyonunu inhibe eder. Rekombinant çözünür NP-1 ifade eden sıçan prostat karsinoma hücreleri damar hasarı, yaygın hemoraji ve apoptotik tümör hücreleri ile karakterize edilmiştir (56).

## 2.5. Flt-1 ve Flk-1 / KDR Tirozin Kinazlar

İki VEGF reseptör tirozin kinaz tanımlanmıştır. Flt-1 (fms-like tyrosine kinase) ve KDR (kinase domain region) reseptörleri VEGF ile yüksek affiniteli bağlanır. Flk-1 (fetal liver kinase-1) / KDR ve Flt-1 hücre dışı kısımda 7 immünglobulin benzeri kısımdan, tek bir transmembran kısımdan ve ortak bir tirozin kinaz sekansından meydana gelir. Flt-1 rhVEGF<sub>165</sub>' e yüksek affinite gösterirken, KDR VEGF için düşük affinite gösterir (16,42) (şekil 2.4).



Şekil 2.4 Farklı hücre tiplerinde VEGF reseptör tirozin kinazların rolü (Ferrara 2003).

## 2.6. Solid Tümörlerde ve Hematolojik Malignitelerde VEGF' nin Rolü

In situ hibridizasyon çalışmaları VEGF mRNA' nın pek çok insan tümöründe ifadesinin arttığını göstermiştir. 1993' te Kim ve arkadaşları VEGF' e karşı antikorların çıplak farede çeşitli tümör hücre hatlarının büyümesinde güçlü bir inhibitör etki oluşturduğunu göstermişlerdir (57). Daha sonra, pek çok diğer hücre hatlarının bu ve VEGF sinyalinin küçük-molekül inhibitörlerle blokasyonu, antisense oligonükleotitler ve VEGFR-2' ye karşı antikorların kullanımını da içeren anti-

VEGF tedavileri ile *in vivo* inhibe edilebileceği gösterilmiştir (16). Her ne kadar tümör hücreleri VEGF' nin majör kaynağı ise de, tümör ilişkili stroma ayrıca VEGF üretiminin önemli bir alanını oluşturmaktadır (42).

Çeşitli çalışmalar kemoterapi ile veya radyasyon terapisi ile anti-VEGF tedavisinin kombine kullanımının her iki tedavinin yalnız başına kullanımından çok daha büyük anti tümör etki ile sonuçlandığını göstermiştir (58,59).

Kanser hastalarında klinik denemeler VEGF' ye karşı insanlaştırılmış monoklonal antikorları (rhuMab VEGF), bir anti-VEGFR-2 antikorunu, VEGFR-2 sinyal iletimini inhibe eden küçük molekülleri ve bir çözünen VEGF reseptörünü de içeren çeşitli VEGF inhibitörleri ile devam etmektedir. Faz II klinik veriler rhuMab VEGF için başlangıç kanıtlar sağlamaktadır. rhuMab VEGF konvansiyonel kemoterapi ile kombine edildiğinde metastatik kolorektal karsinomlu hastalarda sağkalımı artırmaktadır (60).

VEGF multipl miyelom, T-hücre lenfoma, akut lenfoblastik lösemi, Burkitt lenfoma, histiositik lenfoma ve kronik myelositik lösemiye de içeren çeşitli hematolojik malignitelerden gelen hücre hatlarında ifade edilmektedir. Her iki VEGF reseptörünün ifadesi bazı lösemi hücre hatlarında belirgindir ve VEGFR-1, VEGFR-2' den daha fazla ifade edilmektedir. İnsan myeloid lösemi hücre hatlarında VEGFR-1 ve VEGFR-2' ye karşı küçük moleküllerin inhibitör etkileri kanıtlanmıştır (61). Ek olarak VEGFR-2' ye karşı geliştirilmiş bir antikor ksenotransplant insan lösemi hücrelerinin çoğalmasını inhibe etmektedir ve çıplak farede sağkalımı artırmaktadır (62). Bu bulgular VEGF inhibitörlerinin hematolojik malignitelerin tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. 2004' te bevacizumAb metastatik kolorektal kanser için FDA' dan ( Food and Drug Administration ) onay almıştır (63). Bundan 2 yıl sonra da ülkemizde onay almıştır.

## **2.7. Metronomik Kemoterapi**

Konvansiyonel sitotoksik ilaçlar kanser tedavisinde maksimum tolere edilebilen dozda (MTED) kullanılabilmek için dizayn edilmişlerdir. MTED kullanılan kemoterapi sınırlı sayıdaki kanserli hastalarda şifayla, önemli sayıdaki hastada da hastalık kontrolü ile sonuçlanmasına karşın belirgin uzun ve kısa dönem komplikasyonlarına neden olmaktadır. Sitotoksik ilaçların doz kısıtlayıcı yan etkilerine ulaşmasına, dolayısıyla istirahat dönemlerine gerek kalmayacak derecede düşük dozlarda sürekli olarak verilmesiyle antikanser etkinliklerinin artırıldığı alternatif bir kullanım biçimi giderek daha çok ilgi çekmektedir. Bu kemoterapi şemaları metronomik kemoterapi olarak adlandırılmaktadır. Metronomik tedaviler tümör hücrelerine oranla çok daha yavaş proliferen olan anjiogenik endotel hücrelerini hedef alarak yetersiz neovaskülarizasyon sonucunda tümör hücrelerinin büyümesini inhibe etmektedirler. Anti-anjiogenik tedavinin kanser hastalarında faydalı olduğu ise gösterilebilmeye başlanmıştır (1,2,3).

Aslında çeşitli kanserlerde daha önceleri idame kemoterapiler olarak adlandırılan çeşitli protokoller de pekala metronomik kemoterapi olarak tanımlanabilir. Lösemilerdeki başarılı günlük merkaptopurin + haftalık methotreksat, nöroblastomlardaki etkili günlük siklofosfamid + haftalık vinkristin, Wilms tümörlerindeki haftalık vinkristin, akciğer adenokarsinomlarında UFT şemaları bunlar arasındadır (4,5,6,7). Ampirik olarak geliştirilen çeşitli tedavilerin etkinlik mekanizmalarının daha sonraki bilimsel izahlarına bir örnek de metronomik-anti-anjiogenik tümör kontrolü teorisi olacak gibi görünmektedir. Dörde bir orandaki urasil:tegafurdan oluşan UFT in vivo olarak 5 FU, gama-hidroksibutirat ve gama-butirolaktona dönüşür. Her üç metabolitinde anti-anjiogenik özellikleri olduğu prelinik modellerde gösterilmiştir (8,9). İki sene süreyle hergün 250 mg/m<sup>2</sup> oral UFT alan akciğer adenokarsinomlarında 5-8 sene sonra belirgin sağkalım avantajı olduğu gözlenmiştir (7). Grade III toksisite oranı ise sadece %2dir. Yarar özellikle yüksek mikrodamar yoğunluğu ve VEGF ekspresyonu olan tümörlü hastalarda görülmektedir. Haftada bir anti-VEGF monoklonal antikoru bevacizumAb + hergün oral siklofosfamid kullanımıyla standart kemoterapilere dirençli over ve primer peritoneal kanserlerde %80 klinik yarar (kısmi yanıt +stabil yanıt) ve 5.8 ay progresyonsuz sağkalım elde edilmiştir (10).

#### ÖRNEK METRONOMİK KEMOTERAPİ PROTOKOLLERİ

- 1) Avrupa Onkoloji Enstitüsü-Milan Protokolü:  
Oral Siklofosfamid hergün (saat 9 da 50 mg)  
Oral Methotreksat haftanın 1. ve 4. günleri (saat 10 ve 17de 2X2.5 mg)
- 2) Oral Siklofosfamid hergün (50 mg)  
Oral etoposide 3 haftada bir 5 gün (2X50 mg)
- 3) COMBAT protokolü: (1 senede tamamlanan 13 haftalık 4 kür)  
Celecoxib 1.-77. gün (200 mg/m<sup>2</sup>)  
Oral Etoposide 1.-21. gün (25 mg/m<sup>2</sup>)  
Oral Temozolomide 36.-77. gün (60 mg/m<sup>2</sup>)  
13-cis-Retinoic acid 1.-14., 29.-42., 57.-70. gün (100 mg/m<sup>2</sup>)
- 4) Oral Siklofosfamid hergün (50 mg)  
parenteral Vinblastine haftada bir (3 mg/m<sup>2</sup>)  
Rofecoxib her gün (25 mg)
- 5) UFT Oral (300 - 400 mg/body)  
Oral Siklofosfamid hergün (100 - 150 mg/body)

#### 2.8. BevacizumAb (Avastin)

1997' de insanlaştırılmış fare anti-VEGF monoklonal antikoru yapıldı. Tıpkı fare VEGF monoklonal antikorida olduğu gibi, bevacizumab da tüm insan VEGF-A izoformlarını ve bioaktif proteolitik fragmentleri bağlar ve nötralize eder fakat fare ya da sıçan VEGF' e bağlanmaz. BevacizumAb' ın bağlanan epitopu bir kompleks Fab ligandın kristal yapı analizi ile belirlenmiştir.

BevacizumAb çıplak farede insan tümör hücre hatlarının büyümesini inhibe eder, haftalık 2 kez 1-2 mg/kg dozda maksimum inhibisyon sağlar. Yüksek insan / fare VEGF oranlı tümörlerde inhibisyon % 90' ın üzerinde gerçekleşebilir.

BevacizumAb' ın güvenilir değerlendirmeleri *Macaca fascicularis*' de (cynomolgous monkey) başlatılmıştır. 1997' de, Genentech bevacizumAb ile faz I klinik deneme yapmıştır. Bu faz I çalışmada bir tek ajan olarak antikorun diğerlerine nazaran toksik olmadığı ve standart kemoterapi rejimlerine ilave edildiğinde kemoterapi ilişkili toksisiteyi önemli derecede artırmadığı gözlemlenmiştir. 1998' de bazı faz II çalışmalar farklı tümör tiplerinde bevacizumAb ile ya tek bir ajan ya da kemoterapi ile kombine biçimde yapılmıştır. En cesaret verici sonuçlar kolorektal, renal hücreli ve akciğer kanserlerinde elde edilmiştir. Faz III çalışma ilkin Amerika'da önceden tedavi almamış metastatik kolorektal kanserli hastalarda bevacizumabın 5-fluorouracil/leucovorin ile kombine edilmesi biçiminde yapılmıştır. 5-fluorouracil/leucovorin' e bevacizumAb ilavesi toplam sağkalımda önemli derecede artış ile ve ölüm riskinde % 34' lük bir azalma ile sonuçlanmıştır. Ortalama sağkalım 15.6 ay' dan 20.3 ay' a yükselmiştir. 2004' te bevacizumAb metastatik kolorektal kanser için FDA' dan ( Food and Drug Administration ) onay almıştır (63).

## 2.9. Metronomik Kemoterapi Değerlendirme Metodları

Antianjiogenik etkinliği gösterecek biomarkerlar olan plazma VEGF, bFGF, Thrombospondin 1 (TSP-1) düzeyleri ile anti-anjiogenik aktivite arasındaki ilişki her çalışmada gösterilememektedir (65). Dolaşımdaki endotel hücreler (CEC) ve endotel progenitorlerin (CEP) anti-anjiogenik aktiviteyi göstermekte daha iyi potansiyeli olduğu düşünülmektedir. 30 lenfoma, 46 meme kanserli hastada tedavi öncesinde bir çalışmada periferik kanda gerek istirahatteki gerekse aktive endotel hücrelerin 20 sağlıklı kontrole oranla 5 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (66).

Sağlıklı kişilerde CEC=7.9 (uL' de), aktive CEC=1.2 (uL' de), VEGF 83 pg/ml, VCAM 838 pg/ml, kadınlarda aktive CEC=24, adet gören kadınlarda aktive CEC=4.4, kanserde (meme, lenfoma) CEC=39.1, aktive CEC=6.8, VEGF 192 pg/ml, VCAM 1496 pg/ml (p=0.003), lenfomada (lösemik fazda-lenfoma en yüksek) CEC=78, aktive CEC=8.7 (p=0.02), tedavi sonrası remisyonda lenfomada CEC=12.8, aktive CEC=0.8, meme kanserinde (metastatik olan ve olmayan meme kanserinde fark yoktur) CEC=15.8, aktive CEC=5.6, Quadronektomi uygulanmadan önce meme kanserli 13 hastada CEC=25.3, aktive CEC=9, Quadronektomi uygulandıktan 24 saat sonra meme kanserli 13 hastada CEC=16.4, aktive CEC=2' dir. Tedavi başarısı ile özellikle aktive CEC oranı düşmektedir.

Milan Avrupa Onkoloji Enstitüsü'ndeki aynı grup yayınladıkları iki ayrı makale ile metastatik meme kanserindeki metronomik çalışmalarını daha da ileriye götürmüşlerdir (67). 4-renkli akım sitometrisi ile yapılan çalışmada periferik EDTAlı kanda hematopoietik hücreler anti-CD45 (BD-Mountain View, CA: peridinin chlorophyll protein ile konjuge) ile ekarte edildikten sonra endotel hücre tanımlayıcısı olarak P1H12, CD31, CD34, endotel hücrelerindeki aktivasyonu

tanımlayan CD105, CD 106 ve öncü endotel tanımlayıcısı olarak CD133 belirteçleri kullanılmıştır. Bunlardan P1H12 (CD146) endotel hücrelerine özgüdür; hematopoietik ve epitelyal hücrelerle reaksiyon vermez. CD105 (endoglin) Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) ve TGF-beta için reseptördür. İstirahatteki (“resting”) CEC oranı tanımlanması= P1H12+ ((Chemicon, Temecula, CA: FITC ile konjuge) ; CD31+ (BD Pharmingen, San Diego, CA: FITC ile konjuge) ; CD34+ (BD-Mountain View, CA: AlloPhycoCyanin ile konjuge) ; CD105- (Euroclone, Devon, İngiltere: FITC ile konjuge) ; CD106- (BD Pharmingen, San Diego, CA: PhycoErythrin ile konjuge); CD133- (Miltenyl, Bergisch Gladbach, Almanya: PhycoErythrin ile konjuge). Aktive CEC oranı tanımlanması= P1H12+ ((Chemicon, Temecula, CA: FITC ile konjuge) ; CD31+ (BD Pharmingen, San Diego, CA: FITC ile konjuge) ; CD34+ (BD-Mountain View, CA: AlloPhycoCyanin ile konjuge) ; CD105+ (Euroclone, Devon, İngiltere: FITC ile konjuge) ; CD106+ (BD Pharmingen, San Diego, CA: PhycoErythrin ile konjuge); CD133- (Miltenyl, Bergisch Gladbach, Almanya: PhycoErythrin ile konjuge). CEP oranı tanımlanması= CD133+ (Miltenyl, Bergisch Gladbach, Almanya: PhycoErythrin ile konjuge). CEP Ficoll ile ayrılan mononükleer hücre fraksiyonu arasında bulunur. Apoptotik CEC oranı = 7 aminoActinomycin D (7AAD) olarak tanımlanmış ve tümörlü immün kompromise farelerden metronomik tedaviye cevap verenlerde tümörden salınan apoptotik CEC arttığı gösterilmiştir (67,68). Apoptotik CEC artışı aynı metronomik protokolün uygulandığı tümörsüz farelerde gözlenmemiştir.

Her ne kadar CEC metodolojisi anjiyogenez değerlendirilmesinde umut vaat eder gibi görünse de flow sitometrik analize dayanan bu metodun emek yoğun ve masraflı oluşu nedeniyle rutin klinik pratiğe girmesi zor olacak gibi görünmektedir. Serum VEGF değerlendirmesi ELISA yöntemine dayanmakta ve günümüz hastanelerinin merkez laboratuvarlarında yaygın olarak kullandıkları tekniklere kolayca uyarlanabilmektedir. Emek yoğun değildir ve de kullanımı yaygınlaştığında oldukça ucuz olabilecektir.



## MATERYAL VE METOT

26.09.2006-08.11.2007 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Medikal Onkoloji Polikliniğinde metronomik kemoterapi ve bevacizumAb tedavisi almakta olan hastalardan tedavi öncesi ve tedaviye başlangıçtan itibaren 3 ay sonrası kan örnekleri toplandı. Toplanan kan örneklerinden serumları ayrıştırıldı (2000 g, 7 dk) ve -80 °C' de muhafaza edildi. Kontrol amaçlı 25±5 yaş grubu 5 sağlıklı bireyden ve 50±5 yaş grubu 5 sağlıklı bireyden kan örnekleri toplandı. Toplanan kan örneklerinden serumları ayrıştırıldı (2000 g, 7 dk) ve -80 °C' de muhafaza edildi. Ayrıca kordon kanı VEGF düzeyi düşük olduğu için farklı bireylere ait 5 adet kordon kanı serumu kontrol amaçlı kullanıldı (64). Daha sonra muhafaza edilen hasta serum örneklerinden ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ) yöntemi ile VEGF başlangıç ve 3 ay sonrası serum düzeyleri ve kontrol VEGF serum düzeyleri tayin edildi. Çalışmada serum içermeyen 2 kuyucuk negatif kontrol olarak değerlendirildi. Çalışmada Biosource marka VEGF<sub>165</sub> ELISA kiti kullanıldı.

### 3.1. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ) yöntemi

ELISA yönteminde, antijen ya da antikor bir enzimle işaretlenmekte ve immunolojik reaksiyon, enzimatik bir aktivite sonucu gelişen renk ile ölçülmektedir. Duyarlı, özgün ve çabuk sonuç veren bir testtir. Serolojik tanıda kolay ve hızlı olmasından dolayı geniş bir uygulama alanı bulmuştur. ELISA yönteminde antijen, katı bir faza bağlanmaktadır. Katı faz olarak rigid polystyrene, polyvinyl ve polypropilene'den yapılmış tüpler ve mikroplytlerin daha uygun olduğu belirtilmektedir. ELISA'da enzim olarak beta galaktozidaz, glukozoksidaz, peroksidaz ve alkalın fosfotaz kullanılmaktadır. Enzimlerin katabolik etkileri enzim substrasyon reaksiyonu esnasında immunolojik reaksiyonun hem hızlanmasını, hem özgüllüğünü sağlamaktadır. Enzim substrat reaksiyonu genellikle 30-60 dakika içinde tamamlanır. Reaksiyon NaOH veya H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile durdurulabilir ve sonuçlar, kullanılan kojugatın özelliğine göre 400-600 nm de okunur.

Özgün ve saflaştırılmış anti VEGF antikor polistiren mikrokuyucuklara bağlanır. Antijenler doğal halde korunmuştur. Hazır kontroller ve sulandırılmış hasta serumları bu kuyucuklara pipetlenir. Serumda bulunan VEGF kuyucukta mevcut bulunan kuyucuklara bağlı anti-VEGF antikoruna bağlanacaktır. Bağlanmayan proteinler yıkanacaktır ve daha sonra biotin bağlı olan anti- insan VEGF antikorları her bir kuyucuğa eklenecektir. İkinci beklemede bu antikorlar önceden bağlanmış olan hasta antijenleri ve antikorlarla reaksiyona girecektir. Yıkama sırasında bağlanmayan enzim-konjugat kompleksi ayrılacaktır. Enzimin aktivitesi kromojen substrat solüsyonu ilave ettikten sonra oluşan rengin yoğunluğu ile ölçülecektir.

### **Test prosedürü**

1. Kuyucuklara 50 µl inkübasyon tamponu konur.
2. Standart örneklerden kuyucuklara 100 µl konur.
3. Hasta serumlarından kuyucuklara 50 µl konur ve üzerine 50 µl standart seyreltici tampon ilave edilir.
4. 2 saat oda ısısında inkübasyon yapılır.
5. Kuyucuklar aspire edilir ve 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır.
6. 100 µl biotin + anti- VEGF konjugat konur ve oda ısısında 1 saat inkübasyon yapılır.
7. Kuyucuklar aspire edilir ve 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır.
8. 100 µl streptavidin-HRP enzimi ilave edilir ve oda ısısında yarım saat inkübasyon yapılır.
9. Kuyucuklar aspire edilir ve 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır.
10. 100 µl TMB ( Stabilized chromogen ) eklenir. Sıvının rengi maviye dönmeye başlar.
11. Yarım saat oda ısısında karanlıkta bekletilir ( plate aliminyum folyo ile sarılmaz ).
12. 100 µl enzimatik reaksiyonu durduran solüsyon eklenir. Sıvı rengi maviden sarıya dönmelidir.
13. 450 nm' de 2 saat içinde UV spektrometrede okuma yapılır.

### **3.2. Kullanılan laboratuvar malzemeleri**

#### **1- Cihazlar:**

- Heraeus Instruments Etüv
- +4 °C Buzdolabı
- 80 °C Buzdolabı
- Thermo Labsystems Multiscan spectrum
- Nüve NF 800 santrifüj

#### **2- Malzemeler:**

- 1000 mikrolitrelik otomatik pipet
- 200 mikrolitrelik otomatik pipet
- 10 mikrolitrelik otomatik pipet
- Sarı pipet ucu (1-100 mikrolitre) 2 paket
- Mavi pipet ucu (100-1000 mikrolitre) 2 paket
- Çok kanallı otomatik pipet
- 500 ml mezür
- 15 mililitrelik konik tüp
- Steril kapaklı 15 mililitrelik tüp
- 1,5 mililitrelik ependorf tüpleri
- Human VEGF<sub>165</sub> ELISA kit (Biosource)

### 3.3. İstatistik

İstatistik analizler SPSS hazır istatistik paket programı (SPSS 15.0 for Windows) kullanılarak gerçekleştirildi. 3 grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans analizi testi, ikili grup karşılaştırmalarında Bonferonni düzeltmeli Mann Whitney U testi yapıldı. Grupların farklı zamanlardaki VEGF düzeylerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi yapıldı. 0,05'den küçük "p" değeri anlamlı kabul edildi. Metin içerisinde, tablo ve şekillerdeki değerler ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) olarak verildi.

## BULGULAR

Çalışmaya metronomik kemoterapi alan 11 hasta (7 kadın, 4 erkek, yaş ortalamaları 55), bevacizumAb tedavisi alan 16 hasta (4 kadın, 12 erkek, yaş ortalamaları 55.1), kontrol amaçlı 25±5 yaş grubu 5 sağlıklı birey (2 kadın, 3 erkek, yaş ortalamaları 27.6), 50±5 yaş grubu 5 sağlıklı birey (5 erkek, yaş ortalamaları 51) dahil edilmiştir. Ayrıca yapılan ELISA analizinin güvenilirliği için VEGF düzeyi düşük olan farklı bireylere ait 5 adet kordon kanı serumu kontrol amaçlı kullanılmıştır.

Metronomik kemoterapi alan hastaların yaş, tanı, metronomik kemoterapi öncesi serum VEGF düzeyleri ve metronomik kemoterapi sonrası serum VEGF düzeyleri çizelge 2.1’ de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1** Metronomik kemoterapi alan hastaların yaş, tanı, metronomik kemoterapi öncesi serum VEGF düzeyleri ve metronomik kemoterapi sonrası serum VEGF düzeyleri

Hastalar	Yaş	Tanı	Başlangıç VEGF düzeyi	3 ay sonrası VEGF düzeyi
GB	48	Meme kanseri	450 pg/ml	676 pg/ml
FA	69	Meme kanseri	194 pg/ml	299 pg/ml
HT	64	Meme kanseri	280 pg/ml	128.5 pg/ml
CÇ	42	Meme kanseri	660 pg/ml	410 pg/ml
MS	60	Meme kanseri	521.5 pg/ml	518.5 pg/ml
NK	62	Over kanseri	600 pg/ml	96 pg/ml
HU	54	Akciğer kanseri	202 pg/ml	160.4 pg/ml
RY	56	Meme kanseri	300 pg/ml	350 pg/ml
FD	49	Meme kanseri	596 pg/ml	240 pg/ml
FS	52	Akciğer kanseri	898 pg/ml	197.5 pg/ml
HÖ	49	Nazofarenks kanseri	1200 pg/ml	368 pg/ml

BevacizumAb tedavisi alan hastaların yaş, tanı, bevacizumAb tedavisi öncesi serum VEGF düzeyleri ve bevacizumAb tedavisi sonrası serum VEGF düzeyleri çizelge 2.2’ de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2** BevacizumAb tedavisi alan hastaların yaş, tanı, bevacizumAb tedavisi öncesi serum VEGF düzeyleri ve bevacizumAb tedavisi sonrası serum VEGF düzeyleri

Hastalar	Yaş	Tanı	Başlangıç VEGF düzeyi	3 ay sonrası VEGF düzeyi
M.AK	61	Kolon kanseri	206 pg/ml	62 pg/ml
AY	60	Kolon kanseri	207 pg/ml	78.04 pg/ml
CY	53	Kolon kanseri	121 pg/ml	119.1 pg/ml
NK	65	Kolon kanseri	81 pg/ml	121 pg/ml
HK	28	Kolon kanseri	46 pg/ml	130 pg/ml
MÇ	52	Kolon kanseri	597 pg/ml	118 pg/ml
HK	40	Kolon kanseri	602 pg/ml	117 pg/ml
MS	62	Kolon kanseri	129 pg/ml	89 pg/ml
HE	45	Kolon kanseri	446 pg/ml	115 pg/ml
AK	53	Kolon kanseri	450 pg/ml	130 pg/ml
BÖ	56	Kolon kanseri	187 pg/ml	117 pg/ml
HK	66	Kolon kanseri	216 pg/ml	117 pg/ml
ÜK	64	Kolon kanseri	325 pg/ml	127 pg/ml
SC	58	Kolon kanseri	295 pg/ml	115 pg/ml
MK	70	Kolon kanseri	178 pg/ml	119 pg/ml
M.AT	50	Kolon kanseri	600 pg/ml	116 pg/ml

Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum VEGF düzeyleri çizelge 2.3' de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.3** Kontrol amaçlı çalışılan sağlıklı bireylerin yaş ve serum VEGF düzeyleri

Sağlıklı Bireyler	Yaş	VEGF düzeyi
DE	28	129 pg/ml
AD	30	126 pg/ml
KÖ	30	118 pg/ml
SU	22	119 pg/ml
DB	28	125 pg/ml
TK	49	46.9 pg/ml
BS	49	118.6 pg/ml
EY	49	195 pg/ml
ME	54	120 pg/ml
OA	54	113 pg/ml

Yapılan ELISA analizinin güvenilirliği için çalışılan VEGF düzeyi düşük olan farklı bireylere ait 5 adet kordon kanı serumu VEGF düzeyleri sırası ile 39, 44, 43.2, 38.6, 33.4 pg/ml' dir. Kordon kanı serumu ortalama VEGF düzeyi 39.64 pg/ml' dir.

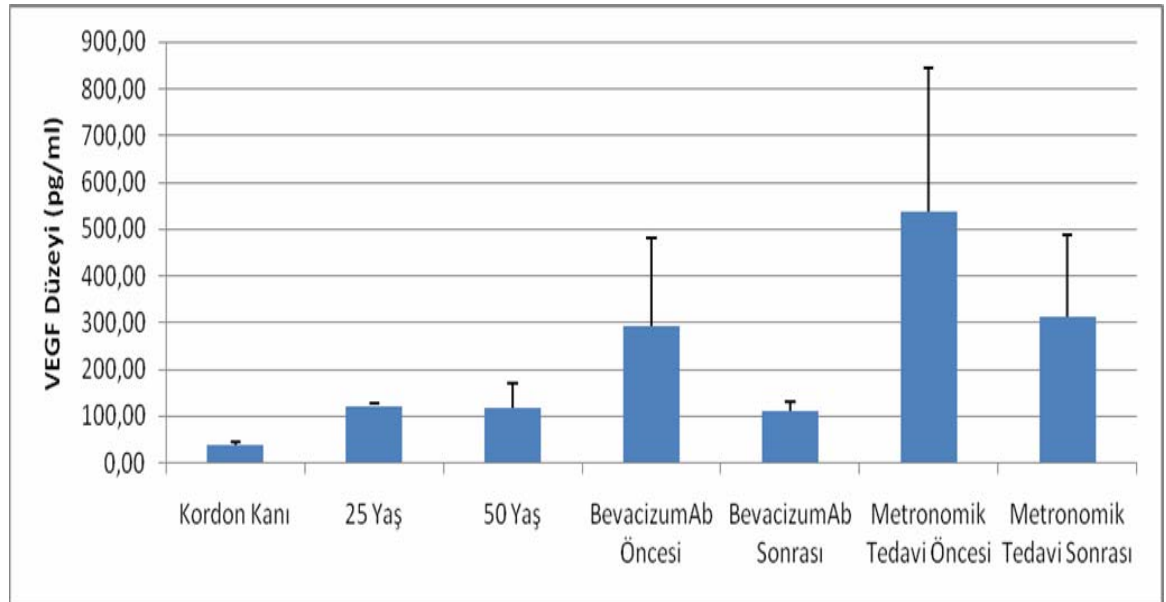
Hastaların ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) VEGF verileri çizelge 2.4' te gösterilmiştir.

**Çizelge 2.4** Hastaların ortalama, SD (standart sapma), min-max (minimum-maximum) VEGF verileri

	Başlangıç VEGF düzeyi				3 ay sonrası VEGF düzeyi			
	Ortalama	SD	Min.	Max.	Ortalama	SD	Min.	Max.
<b>Metronomik Kemoterapi n : 11</b>	520 pg/ml	308	194 pg/ml	1200 pg/ml	299 pg/ml	176	96 pg/ml	676 pg/ml
<b>Bevacizumab Tedavisi n : 16</b>	211 pg/ml	189	46 pg/ml	602 pg/ml	117 pg/ml	18.9	62 pg/ml	130 pg/ml

Sağlıklı bireylerin serum VEGF düzeyi ortalaması 119.5 pg/ml, standart sapması 35.1, minimum değeri 47 pg/ml, maximum değeri 195 pg/ml' dir.

**Çizelge 2.5** Sağlıklı bireylerin ve hastaların ortalama VEGF düzeyleri



## 4.1 Hasta Klinik Verileri

### 4.1.1. Metronomik Tedavi Alan Hastalar

**CÇ.** 42 yaşında postmenapozal hastaya Ağustos 2002 yılında evre II meme (sağ) kanseri tanısı konmuş ve 1 hafta sonra opere edilmiştir. Aksilla 15 lenf nodu (+), tümör çapı 2 cm olarak değerlendirilmiştir (T2 N3 (15/15) M0). CerbB 2 (-), ER (-) ve PR % 80 alanda 2-3 şiddetinde pozitif boyanmış, P 53 %50 +3' tür. Hastaya 14.11.2002-11.03.2003 tarihleri arasında 6 kür CAF protokolü kemoterapi uygulanmıştır. Hasta 04.06.2003-10.03.2005 tarihleri arasında Zoladex 10.8 mg + Tamoksifen 2x10 mg kullanmış, 05.04.2006-26.01.2007 tarihleri arasında Taxotere + Zometa 12 kür almıştır. Hasta bu tarihten itibaren 30.10.2007 tarihine kadar Zometa kullanmaya devam etmiştir. Kemoterapiye eş zamanlı hasta radyoterapi almış ve 2x10 mg Tamoksifen kullanmıştır. 28.04.2006 tarihinde hastada kemik metastazı, 24.03.2006 tarihinde akciğer metastazı, 08.12.2006 tarihinde beyin metastazı izlenmiştir. Hastaya 08.02.2007-21.02.2007 tarihleri arasında kranial palyatif radyoterapi uygulanmıştır. 05.03.2007' de hastaya oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 haftada bir 7 gün) başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Oral siklofosfamid + etoposide başlangıç öncesi hastanın CEA değeri 3.02 ng/ml, CA15-3 değeri 34.84 IU/ml, performans skoru (ECOG) 1 (Karnofsky > %70) ve şikayeti yürüme esnasında kalçada ağrı biçimindedir. Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası hastanın CEA değeri 2.62 ng/ml, CA15-3 değeri 39.49 IU/ml' dir. Kranial MR' da tümör çapı 2 cm' den 1 cm' ye gerilemiştir (14.03.2007. Kranial radyoterapiden 21 gün sonra). 06.04.2007' de 02.02.2007 (premetronomik) tarihli tetkikle yapılan karşılaştırmalı değerlendirmede, sağ hemitorakstaki plevral mayi miktarı artmıştır (en derin yerinde 1,5 cm' den 3 cm' ye). Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası hastanın performans skoru 1' dir. 12.11.2007' de sağ hemitoraksta en derin yerinde 6 cm olan plevral kalınlaşma ve plevral sıvı ile uyumlu görünüm izlenmiştir. 28.11.2007 itibari ile hasta 11. kür oral siklofosfamid + etoposide kullanmaktadır. Akciğer parankiminde lezyon mevcut değildir. Hastada kalp yetmezliği yoktur. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 660 pg/ml, oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 410 pg/ml bulunmuştur. Metronomik tedavi ile VEGF % 38 düşerken, klinik etkisi stabil yanıt olarak değerlendirilmiştir. Progresyonsuz sağkalım 8,5 + ay' dir.

**MS.** 60 yaşındaki kadın hastada Haziran 2002 yılında sağ memede kitle bulunmuş (2.5+1.5 cm) ve evre II meme kanseri tanısı konmuştur (T2 N0 M0). Östrojen reseptörleri %50 +3, progesteron reseptörleri negatif, cerbB2 %90 +3' tür. Hasta opere edilmiştir. Hastaya 4 kür CA protokolü kemoterapi + radyoterapi + tamoksifen 2x1 başlanmıştır. 02.07.2004 tarihinde hastada kemik metastazı belirlenmiştir. 23.08.2004' ten 04.04.2005 tarihine kadar hasta Zometa 4 mg kullanmıştır. 12.04.2005' ten 23.08.2006 tarihine kadar hasta 19 kür Taxotere + Herceptin + Zometa kullanmış, 20.09.2006' dan 23.02.2007 tarihine kadar 6 kür Gemsitabin almıştır. 21.06.2006' da hastada beyin metastazı meydana gelmiştir. 15.03.2007' de hastaya oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 haftada bir 7

gün) başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Oral siklofosfamid + etoposide başlangıç öncesi hastanın CEA değeri 33 ng/ml, CA15-3 değeri 230 IU/ml, performans skoru 1' dir. Oral endoksan + etoposide kullanımının 3 ay sonrası tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası hastanın CEA değeri 602 ng/ml, CA15-3 değeri 1992 IU/ml' dir. 16.07.2004' de hastada hepatomegali, 10.07.2007' de karaciğer metastazı izlenmiştir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 521.5 pg/ml, oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 518.5 pg/ml bulunmuştur. Metronomik tedavi ile VEGF değerinde düşme olmamıştır ve hastada gerek tümör belirteci artışı, gerekse yeni metastatik lezyonlar ile klinik progress görülmüştür. Progresyonsuz sağkalım < 3 aydır.

**HT.** 64 yaşındaki kadın hastaya 1997 yılında evre IV meme kanseri tanısı konmuş ve hasta opere edilmiştir. Hasta 1997' de 6 kür CA protokolü kemoterapi + radyoterapi + Tamoksifen almıştır. 1998' de lokal nüks + kemik metastazı izlenmiştir. 1998' de hasta 3 kür CAF protokolü kemoterapi + palyatif radyoterapi almıştır. 2000 yılında prognostik amaçlı yapılan immünohistokimyasal boyalardan östrojen reseptörleri ve cerbB 2 %50 alanda, progesteron reseptörleri %70 alanda, p 52 ve P 53 %10 alanda, CEA %80 alanda, nm 23 %70 alanda, katepsin D ve PCNA %60 alanda 3 pozitif UEA-1 %20 alanda 2 şiddetinde pozitif olarak değerlendirilmiştir. 2003 yılında hastada hepatomegali gelişmiştir. Hasta 2000-2004 yılları arasında Arimidex (X) + Zometa ayda bir kullanmıştır. Ekim 2004' te hasta 8 kür Taxotere 75 mg/m<sup>2</sup>, Aralık 2005' te Xeloda, 20.12.2005' de 2 kür Capecitabine 2x2000 mg başlanmıştır. Hastanın bu dönemde aktif yakınması bulunmamaktadır. Mart 2006' da hasta 1 kür Vinorelbin, Mayıs ve Haziran 2006' da 2 kür Gemcitabin almıştır. Bunlara rağmen progress meydana gelen hastaya 06.12.2006' da metronomik siklofosfamid + Methotrexate (sabah her gün 50 mg + 2x5 mg /haftada 2 gün) başlanması kararlaştırılmıştır. 07.12.2006'da oral siklofosfamid + Methotrexate öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 07.12.2006'da oral siklofosfamid + Methotrexate öncesi CA15-3 değeri 1340 IU/ml, performans skoru 2' dir. 3 ay sonra tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır ve bu tarihte CA15-3 değeri 1704 IU/ml' dir (Mart 2007). Nisan 2007 metotreksat + siklofosfamid tedavisinin 4. ayı tamamlanmış, CA15-3 düzeyi, aksiler lenf nodu büyüklüğü azalmıştır. Kısmi cevap +. Fakat grade IV myelosupresyonu gelişmiş, metronomik tedaviye son verilmiştir. Hastaya Fulvestrant başlanmıştır. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 280.2 pg/ml, oral endoksan + methotrexate kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 128.5 pg/ml bulunmuştur. Dolayısıyla VEGF değerinde metronomik tedavi ile düşme gözlemlenen bu hastada aynı dönemde kısmi yanıt gözlenmiştir.

**GB.** 48 yaşındaki postmenapozal hastaya 2000 yılında meme kanseri tanısı konmuş ve mastektomi yapılmıştır. 4 yıl hasta Tamoksifen 2x10 mg kullanmış, hastaya 2004 yılında evre II endometrium kanseri tanısı konmuştur. 2004 Haziran' da tümör 5.5 x 2 x 1.5 boyutlarında değerlendirilmiştir. Hastaya 16.03.2005' de Paclitaxel (Taxol) + Carboplatin 1 kür verilmiştir. Vaginal kanama nedeni ile hastaya TAH + BSO yapılmıştır. 17 lenf nodu reaktif değerlendirilmiştir. P53 +++,



Karnofsky performans skoru % 80' dir. 28.01.2005' de karaciğer sağ lopta 4 cm çapında hipodens kitle belirlenmiştir. 06.04.2005-30.06.2005 tarihleri arasında hastaya 5 kür Paclitaxel (Taxol) + Carboplatin verilmiştir. Hasta 05.09.2006' da 1 kür daha Paclitaxel (Taxol) + Carboplatin almıştır. 26.09.2006' da hastaya oral siklofosfamid + etoposide (siklofosfamid 1x50 mg/gün, etoposide 3 günde bir 50 mg) başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Oral endoksan + etoposide öncesi hastanın CA15-3 değeri 72 IU/ml' dir. Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hastada bu tarihte karında ağrı ve halsizlik şikayetleri mevcuttur. Oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası hastanın CA-125 değeri 1877 IU/ml, CA15-3 değeri 312 IU/ml, Karnofsky performans skoru 60' tır (12.12.2006). 20.2.2006' da hastanın karaciğer segment 8'de 1.5 cm, sol lobda 3x4 cm hipodens kitlesi 23.5.2006' da sırası ile 2.5x2 ve 5x4 cm' ye yükselmiştir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 450.5 pg/ml, oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 676 pg/ml bulunmuştur. Metronomik tedaviden 3 ay sonra kitle boyutu, performans skoru ve tümör belirteci yönünden progress ve VEGF düzeyinde % 33 artış gözlenmiştir.

**HU.** 54 yaşındaki erkek hastaya 22.11.2006 tarihinde küçük hücreli akciğer kanseri tanısı konmuştur. Bu tarihte hastada ayrıca karaciğerde metastaz gözlemlenmiştir. Hastaya 14.03.2007 tarihine kadar 6 kür Carboplatin + Etoposide verilmiştir. 02.04. 2007' den itibaren hastanın oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 haftada bir 7 gün) alması kararlaştırılmıştır. Oral siklofosfamid + etoposide başlangıç öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 26.03.2007'de (premetronomik, post karboplatin+etoposide) hastada kemik metastazı belirlenmiştir. Hastanın (pre-metronomik tedavi) performans skoru 1' dir (Karnofsky>%70 ?). 2007 Temmuz'da (post-metronomik tedavi) hastanın performans skoru 2'dir. 24.01.2007' de akciğerde kitle 3.5 x 5 cm boyutlarındadır. Karaciğerde multiple hipodens lezyonlar mevcuttur. Patolojik boyutta lenf nodu yoktur. Hastanın akciğerdeki kitlesi Mart 2007' de (premetronomik) 2.5 x 3.5 cm (8.75 cm<sup>2</sup>) boyutlarına gerilemiştir. Ancak Mayıs 2007' de akciğerdeki kitlesi 4 x 4 cm (post metronomik 2. ay sonu 16 cm<sup>2</sup>) boyutlarına çıkmıştır. Karaciğerde izlenen metastatik lezyonların sayısı ve boyutlarında artış izlenmiştir. 27.3.2007 tarihinde karaciğer sağ lob segment 6' da yaklaşık 5 cm çapında hipodens lezyon izlenmiştir. 18.7.2007 tarihinde karaciğerde en büyüğü segment 6 ve 7' de yaklaşık 3x2 cm boyutunda hipodens lezyonlar mevcuttur. Hastadan 23.07.2007' de 3 ay sonrası tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 18.7.2007 tarihinde akciğerde kitle 4x3.5 cm boyutundadır. Hastaya metronomik tedavinin başarısız olduğu değerlendirilmesiyle 2007 Temmuz' dan itibaren 3 kür İrinotekan + Ifosfamid verilmiştir. Hasta 13.09.2007' de vefat etmiştir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 202 pg/ml, oral endoksan + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 160.4 pg/ml bulunmuştur. Metronomik tedaviden 3 ay sonra performansta ECOG skalasında bir kötüleşme, tümör boyutlarında progress görülen hastanın VEGF düzeyi % 20 azalmıştır.

**FS.** 52 yaşındaki erkek hastaya 26.09.2006 tarihinde evre IV küçük hücreli akciğer kanseri tanısı konmuştur. Hastaya 04.10.2006-05.03.2007 tarihleri arasında 6 kür Carboplatin + Etoposide uygulanmış, aylık Zometa verilmiştir. Ayrıca hastaya palyatif radyoterapi (L2-L4 vertebralara) uygulanmıştır. Bu tarihte hastada bel ağrısı, bacaklarda kasılma şikayetleri mevcuttur. 30.10.2006' da hastada kemik metastazı tespit edilmiştir. Akciğerde yaklaşık 5 x 3 cm' lik kitle kemoterapi sonrası 2 x 2 cm' ye gerilemiştir. Patolojik lenf nodu yoktur. 16.10.2006' da hastaya yeniden profilaktik amaçlı radyoterapi uygulanmıştır. 23.05.2007 tarihinde hastada beyin metastazı tespit edilmiş ve hasta profilaktik kranial radyoterapi almıştır. Hastanın 14.06.2007' de oral siklofosfamid + etoposide (3 haftada bir) alması kararlaştırılmış, öncesinde VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 05.12.2007 tarihine kadar hastaya 8 kür oral siklofosfamid + etoposide verilmiştir. 27.09.2007' de tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hastanın oral siklofosfamid + etoposide öncesi performans skoru 2' dir. 3 ay sonrası performans skoru 1' dir. Hastanın metronomik kemoterapi öncesi tomografileri ile yapılan karşılaştırmada, sağ hiler alanda izlenen yumuşak doku dansitesi (LAP ?) yeni bulgudur. Eski BT' lerde parankim penceresi eksik olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır. Bunun dışında bulgularda anlamlı farklılık saptanmamıştır. Hastanın kemoterapi sonrası genel şikayeti sırtında zaman zaman ağrı hissetmesi şeklindedir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 898 pg/ml, oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 197.5 pg/ml bulunmuştur. Metronomik tedavi ile ECOG performans skoru ikiden bire düzelen, metastatik lezyonları stabil olan hastanın VEGF düzeyi çok düşmüştür. Progresyonsuz sağkalım 6 + aydır.

**FA.** 68 yaşındaki kadın hasta 1997 yılında meme kanseri tanısı ile sağ mastektomi operasyonu olmuştur. 1997' de sağ mastektomi sonrası hasta radyoterapi + 6 kür CMF (siklofosfamid - 600mg/m<sup>2</sup> 1.gün, mtx - 40 mg/m<sup>2</sup> 1.gün, 5-FU - 600mg/m<sup>2</sup> 1.gün, 21 günde bir) + tamoksifen almıştır. 10.11.1997' de 20 axiller lenf nodunda metastaz izlenmiştir. 2000 yılında hastaya TAH + BSO yapılmıştır. 12.04.2002' de tümör dokusunun perinöral ve çizgili kas invazyonları yaptığı izlenmiştir. 13.10.2004' te 2.5 cm çapına ulaşmış birkaç odakta düzensiz sağ latissimus üzeri lokal soliter tümör odakları izlenmiştir. 02.01.2006' da hastada T9, T8 vertebrada izlenen metastaz üzerine 17.02.2006' da hasta palyatif radyoterapi almıştır. 06.04.2006' da hasta Zometa 4 mg + capecitabine 2x 1000 mg 1 kür almıştır. 25.05.2006' da hasta Zometa 4 mg + capecitabine 2x 1000 mg 4. kür almıştır. 07.06.2006' da CA15-3 değeri 66 IU/ml, CEA değeri 2 ng/ml' dir. 12.09.2006 tarihine kadar hastaya 8-9 kür capecitabine 2x 1000 mg verilmiş, fakat Xeloda altında hastada progress izlenmiştir. 13.09.2006' da sağ paratrakeal 1.5 cm boyutunda, prekarinal ve subkarinal 1 cm boyutlu lenf nodları mevcuttur. Sol aksillar alanda 2x2 cm boyutunda LAP mevcuttur. Sol akciğer üst lob posterolateral kesimde plevral tabanlı 2x1 cm boyutunda nodüler dansite mevcuttur. 13.09.2006' da Karnofsky performans skoru % 60, CA15-3 değeri 82 IU/ml' dir. Hastada öksürük şikayeti vardır. 27.09.2006' da hastaya oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 günde bir 50 mg, siklofosfamid günlük 50 mg) başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Bu tarihte hastanın ekokardiyografi LVEF % 58' dir. Hasta taşikardiktir.

08.11.2006' da Karnofsky performans skoru % 60, CA15-3 değeri 53 IU/ml' dir. 21.12.2006' da tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc döz tüpe kan alınmıştır. 15.01.2007' de hasta 10 aydır zometa + 3.5 aydır oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 günde bir 50 mg, siklofosfamid günlük 50 mg) kullanmaktadır. Karnofsky performans skoru % 60, CA15-3 değeri 35 IU/ml' dir. Hastada epigastrik hassasiyet mevcuttur. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 194 pg/ml, oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 299 pg/ml bulunmuştur. Oral siklofosfamid + etoposide ile girdiği lökopeni nedeniyle tedavisi kesilmiştir. Dolayısıyla 3 aylık metronomik siklofosfamid + etoposide kullanımıyla VEGF düzeyi 100 pg/ml artarken performansı stabil kalmış, CA15-3 düzeyi 82 IU/ml'den 35 IU/ml'ye (normal sınırlar) inmiş, progresyonsuz sağkalım > 8 ay'dır.

**NK.** 62 yaşındaki hastaya evre IV over kanseri tanısı konmuştur. Gördüğü standart kemoterapilere rağmen progress olan hastanın 05.01.2007' de karaciğer kitle boyutu 4.5x4 cm' dir. Eylül 2006' ya göre hastanın karaciğer kitle boyutu artmıştır. Hastaya 30.03.2007 tarihinde oral siklofosfamid + etoposide (etoposide 3 günde bir 50 mg, siklofosfamid günlük 50 mg) başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc döz tüpe kan alınmıştır. Bu tarihte hastanın VEGF düzeyi 600 pg/ml' dir. 27.03.2007 tarihinde (premetronomik) hastanın CA-125 düzeyi 443 IU/ml' dir. 05.06.2007' de hastanın CA-125 düzeyi 463 IU/ml' dir. 05.07.2007' de tekrar hastadan VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc döz tüpe kan alınmıştır. Hastanın oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 96 pg/ml bulunmuştur. VEGF düzeyi düşen, tümör belirteci % 5 artan hastada renal yetmezlik gelişmiştir.

**RY.** 56 yaşındaki hastaya meme kanseri tanısı konmuştur. 01.05.2007' de hastaya metronomik oral siklofosfamid + etoposide başlanmış ve öncesinde 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc döz tüpe kan alınmıştır. Bu tarihte hastanın VEGF düzeyi 300 pg/ml' dir. 18.05.2007' de hastanın CEA değeri 40.24 ng/ml, CA15-3 değeri 45.2 IU/ml' dir. 26.04.2007' de hastanın karaciğerinde 3x3 cm boyutlarında olan kitlesi 25.07.2007' de 4x4 cm boyutlarına çıkmıştır. 13.08.2007' de hastanın CEA değeri 54.98 ng/ml, CA15-3 değeri 67.24 IU/ml düzeyine yükselmiştir. 17.08.2007' de tekrar hastadan VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc döz tüpe kan alınmıştır. Hastanın oral siklofosfamid + etoposide kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 350 pg/ml bulunmuştur. Tümör belirteci ve tümör boyutlarında progress görülen hastanın VEGF düzeyi % 17 artmıştır.

Sonuç olarak metronomik tedaviyle VEGF değeri düşen beş hastanın dördünde stabilleşme ya da gerileme görülürken, VEGF değeri düşmeyen dört hastanın üçünde progress görülmüştür.

#### **4.1.2. BevacizumAb Monoklonal Antikor + Kemoterapi Alan Hastalar**

**MÇ.** 52 yaşındaki erkek hastaya 04.04.2007' de kolon kanseri + karaciğer metastazı tanısı konmuştur. Hastanın 11.04.2007' de CEA değeri 55.83 ng/ml, CA 19-9 değeri > 700 IU/ml, CA 15-3 değeri 60.55 IU/ml, CA 125 değeri 235.3 IU/ml' dir. Hastaya 12.04.2007 tarihinde irinotecan + 5 FU + LV + BevacizumAb

başlanmıştır. 28.03.2007' de karaciğerde en büyüğü 6 cm çapında olan çok sayıda hipodens kitle mevcuttur (prebevacizumAb). 13.04.2007' de VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hasta 26.07.2007 tarihine kadar toplam 8 kür Campto + LV + 5-FU + BevacizumAb almıştır. 20.06.2007' de CEA değeri 13 ng/ml, CA 19-9 değeri 276 IU/ml' dir. 20.07.2007' de tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 24.08.2007' de karaciğerde en büyükleri sağ lop segment 7' de 6x4 cm çaplı ve segment 6' da 8x5 cm çaplı bilobe olmak üzere multiple hipodens nodüler lezyonlar izlenmiştir. 29.08.2007' de CEA değeri 11 ng/ml, CA 19-9 değeri 408 IU/ml, performans skoru 2' dir. 01.11.2007' ye kadar hasta 15 kür BevacizumAb + 6 kür IFL almıştır. 16.11.2007' de hasta 1 kür oxaliplatin almıştır. 06.12.2007' de hastaya aylık zometa uygulaması başlanmıştır. 13.09.2007' de karaciğerde kitle 49x56x53 mm boyutundadır. 07.11.2007' de karaciğerde 8x5 cm, 5x5 cm, 4,5x3 cm boyutlarında çok sayıda hipodens nodüler lezyonlar izlenmiştir. 07.11.2007' de sol akciğerde 2 adet milimetrik pulmoner nodül izlenmiştir. 27.11.2007' de kemik metastazı görülmüştür. 06.12.2007' de hastaya palyatif radyoterapi uygulanmıştır. 18.12.2007' de hastada kranial metastaz görülmüştür. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 597 pg/ml, Altuzan (BevericizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 118 pg/ml bulunmuştur. Bu sürede CEA değeri 56 ng/ml' den 13 ng/ml' ye, CA 19-9 değeri > 700 IU/ml' den 276 IU/ml' ye düşmüş, karaciğer kitle boyutu değişmemiştir. Progresyonsuz sağkalım 7 ay' dır.

**MS.** 62 yaşındaki erkek hastaya 09.02.2005' te kolon kanseri tanısı konmuştur (4x6 cm). 21.02.2005' te hasta opere edilmiştir (T3 N2 M0). Hastaya radyoterapi ile eş zamanlı 5-FU + LV başlanmıştır (28.03.2005). hastaya 23.09.2005' e kadar toplam 6 kür 5-FU + LV verilmiştir. Hastada 04.07.2006' da 1,5x1 cm boyutunda karaciğerde metastaz görülmüştür. 19.04.2007' de hastaya İrinotecan + 5-FU + LV + Altuzan (BevericizumAb) başlanmıştır. 19.04.2007' de VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 11.04.2007' de hastanın CEA değeri 42 ng/ml, performans skoru 1' dir. 14.08.2007 tarihine kadar hastaya toplam 3 kür Campto + 5-FU + LV + Altuzan (BevericizumAb) verilmiştir. 23.07.2007' de VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 21.08.2007' de hastaya Oxaliplatin başlanmış, 26.12.2007' ye kadar 4 kür hasta Oxaliplatin almıştır. 14.08.2007' de CEA değeri 8.95 ng/ml, CA 19-9 değeri 27 IU/ml' dir. 29.09.2006' da karaciğerde kitle 3x2 cm boyutlarındadır. 24.03.2007' de hastaya karaciğer metastektomi yapılmıştır. 13.08.2007' de karaciğerde 2,5x2 ve 1,5 cm boyutlu 2 adet kitle saptanmıştır. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 129 pg/ml, Altuzan (BevericizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 89 pg/ml bulunmuştur. BevericizumAb tedavisi öncesi ve sonrası VEGF düzeyleri % 31 düşen ama her ikisinde normal sınırlarda olan hastanın CEA düzeyi 42 ng/ml' den 9 ng/ml' ye düşerken karaciğer kitle boyutu 2 kat artmıştır. Progresyonsuz sağkalım 4 ay' dır.

**MK.** 70 yaşındaki erkek hastada kolonda 5 cm çapında kitle saptanmış ve 22.05.2006' da kolon kanseri tanısı konmuştur ( T3 N0 M ). Hasta opere edilmiştir (25.05.2006). 30.03.2007' de karaciğerde metastaz izlenmiştir (en büyüğü 4,5x3 cm). Hastaya 05.04.2007' de Oxaliplatin başlanmış ve 05.06.2007' ye kadar hasta 4 kür Oxaliplatin almıştır. 05.07.2007' de hastaya FOLFİRİ + LV + Altuzan

(BevacizumAb) başlanmıştır. 26.06.2007' de (prebevacizumAb) hastanın CEA değeri 373 ng/ml, performans skoru 2' dir. 05.07.2007' de VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 12.12.2007' ye kadar hasta FOLFİRİ + LV + Altuzan (BevacizumAb) toplam 12 kür almıştır. 30.10.2007' de tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 26.11.2007' de CEA değeri 3.4 ng/ml, CA 19-9 değeri 7,9 IU/ml, performans skoru 1' dir. 10.12.2007' de karaciğerde kitle 26x21 mm boyutlarına gerilemiştir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 178 pg/ml, Altuzan (BevacizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 119 pg/ml bulunmuştur. 3 aylık bevacizumAb tedavisiyle VEGF serum düzeyleri gerileyerek sağlıklı kontrol düzeyine inen hastanın aynı dönemde ECOG performans skoru ikiden bire düzeldiğinde CEA düzeyi normalin yüz katı fazla düzeyden normale inmiş, karaciğer metastazlarının en büyüğünün boyutu 13.5 cm<sup>2</sup>' den 5.4 cm<sup>2</sup>' ye inmiştir. Progresyonsuz sağkalım > 5 ay'dır.

**CY.** 53 yaşındaki erkek hastada kolondaki tümör çapı 7 cm, tümör uzunluğu 13cm' dir, subseroza invazyonu bulunmaktadır. 17.10.2005' de adenokarsinom metastazı, 5 adet lenf düğümü izlenmiştir (T3 N2 M0). 07.11.2005-25.05.2006 tarihleri arasında hastaya Oxaliplatin 85 mg/m<sup>2</sup> + Leukovorin 400 mg/ m<sup>2</sup>, 5-FU 400 mg/ m<sup>2</sup> IV bolus ve takiben 5-FU 2000 mg/m<sup>2</sup> kemoterapi uygulanmıştır. 01.11.2006' da karaciğerde izlenen metastatik lezyon ve batın içi nodüler dansite bevacizumAb öncesi bulgulardır. 23.01.2007' de hastada splenomegali gözlemlenmiştir.13.11.2006-05.12.2007 tarihleri arasında hastaya 21 kür Altuzan (BevacizumAb) verilmiştir. 21.02.2007' de hastadan kemoterapi öncesi (bevacizumAb başladıktan 3 ay sonra) VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hastanın bu tarihte (21.2.2007) CEA değeri 5.57 ng/ml, CA19-9 değeri 81.95 IU/ml, performans skoru 1' dir. 3 ay sonra tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. 13.06.2007' de CEA değeri 5.6 ng/ml, CA 19-9 değeri 88 IU/ml' dir. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 120.9 pg/ml, Altuzan (BevacizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 119.1 pg/ml bulunmuştur. BevacizumAb tedavisinin 3. ve 6. ayında gerek klinik yanıt, gerek VEGF düzeyi stabil kalmıştır ve hastanın VEGF değeri normal erişkin düzeyindedir.

**HK.** 28 yaşındaki kadın hastaya 2007 Ocak' ta kolon kanseri tanısı konmuştur (T3 N1). Yapılan kolonoskopide 20 cm' de tümör saptanmış ve sigmoid kolon rezeksiyonu yapılmıştır. 05.03.2007' de reaktif 2 adet mezo lenf nodu mevcuttur. 06.03.2007-04.12.2007 tarihleri arasında hasta 14 kür Altuzan (Bevacizumab) tedavisi almıştır. Altuzan (Bevacizumab) tedavisi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hastanın bu tarihte CEA değeri 0.817 ng/ml, CA19-9 değeri 7.3 IU/ml, performans skoru 1' dir. 13.06.2007' de tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Bu tarihte CEA değeri 0.7 ng/ml, CA19-9 değeri 6.75 IU/ml, performans skoru 1' dir. Hastada immünokemoterapi sonrası tümöral dokuda gerileme saptanması üzerine tanısal laparoskopi yapılmak üzere 03.10.2007' de yatırılmış ve batın içinde tümöral doku izlenmemiştir (Patolojik tam yanıt). Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 46 pg/ml, Altuzan (BevacizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 130 pg/ml

bulunmuştur. VEGF düzeyi tedavi öncesi ve sonrası normal sınırların üzerinde olmayan bu hastada bevacizumAb ile tam yanıt oluşmuştur.

**HK.** 66 yaşındaki erkek hastaya 10.12.2003 tarihinde kolon kanseri tanısı konmuştur. 24.12.2003 tarihinde hasta opere edilmiştir. Tümör boyutu 3.5 x 2.5 x 2 cm olarak değerlendirilmiştir. 5 adet reaktif lenf düğümü mevcuttur (T3 N1). 30.03.2004-11.05.2004 tarihleri arasında hastaya 6 kür 5-FU 425 mg/m<sup>2</sup> + Leukoverin 20 mg/m<sup>2</sup> verilmiştir. Hasta eş zamanlı radyoterapi almıştır. Şubat 2007' de kanser nüks etmiştir. 19.06.2007-20.09.2007 tarihleri arasında hasta 7 kür Altuzan (Bevacizumab) tedavisi almıştır. Altuzan (Bevacizumab) tedavisi öncesi VEGF değerlendirmesi amacı ile 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Hastanın bu tarihte CEA değeri 395 ng/ml, CA19-9 değeri 38.3 IU/ml, performans skoru 2' dir. 03.10.2007' de tekrar VEGF değerlendirmesi amacı ile hastadan 5 cc düz tüpe kan alınmıştır. Bu tarihte (postbevacizumAb) CEA değeri 31.5 ng/ml, CA19-9 değeri 57 IU/ml, performans skoru 1' dir. Hastanın bu dönemde idrar tutamama ve makatta ağrı şikayetleri mevcuttur. 17.11.2007' de hasta ağrı kontrolü amaçlı yatırılmış ve 27.11.2007' de taburcu edilmiştir. 4.06.2007' de (Pre bevacizumAb) jejunal ansların çevresinde 34x32 mm boyutlarında hipodens saha gözlemlenmiştir. 3.10.2007' de (Post bevacizumAb) kitle boyutu 5x5 cm civarındadır. Hastanın 0. gün kemoterapi öncesi VEGF değeri 216 pg/ml, Altuzan (BevacizumAb) kullanımının 3 ay sonrası VEGF değeri 117 pg/ml bulunmuştur. Dolayısıyla bevacizumAb tedavisi ile VEGF düzeyi yaklaşık 2 kat azalarak normal sınırlara dönen hastanın tümör belirteci düzeyinde kısmi yanıt (10 kat düşme) gözlenirken kitle boyutunda progress olmuştur.

Sonuç olarak bevacizumAb anti-VEGF monoklonal antikor + kemoterapi ile VEGF değeri düşen iki hastada klinik yarar belirginken, VEGF değeri düşen bir diğer hastanın tümör belirteci 10 kat düşerken, kitle alanı iki katına çıkmıştır. BevacizumAb tedavisi ile VEGF düzeyi stabil (normal sınırlarda) kalan üç hastadan birinde tam yanıt görülürken, diğer ikisinde stabil yanıt görülmüştür. BevacizumAb uygulanan hiçbir hastada VEGF düzeyi normal sınırların üzerinde görülmemiştir.

#### **4.2 Kontrol Amaçlı Kullanılan Bireylerin Klinik Verileri**

**BS.** 49 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 118.6 pg/ml.

**TK.** 49 yaşında erkek. KAH. Koroner damara stent takılmıştır (2007 ilkbahar). Aspirin + Plavix kullanmakta. 31.12.2007' de saat 10' da brakial venden kan alındı. VEGF değeri 46.9 pg/ml.

**EY.** 49 yaşında erkek. Sickle cell taşıyıcı. 31.12.2007' de saat 10' da brakial venden kan alındı. Ailede hiç damar tıkanıklığı öyküsü yok. VEGF değeri 195 pg/ml.

**ME.** 54 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 120 pg/ml.

**OA.** 54 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 113 pg/ml.

**DE.** 28 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 129 pg/ml.

**AD.** 30 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 126 pg/ml.

**KÖ.** 30 yaşında kadın 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 118 pg/ml.

**SU.** 22 yaşında kadın 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 119 pg/ml.

**DB.** 28 yaşında erkek 31.12.2007' de saat 10' da sol brakial venden kan alındı. VEGF değeri 125 pg/ml.

Metronomik kemoterapi alan hastalar, bevacizumAb tedavisi alan hastalar ve sağlıklı bireyler karşılaştırıldığında bir grubun VEGF düzeyi bakımından diğerlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir. Sağlıklı bireylerin VEGF düzeyi Kruskal-Wallis analizine göre hastalardan anlamlı düşüktür (p: 0.0001). Yarıısı 25 yaş, yarıısı 50 yaş civarında olan kontrol grubunda her iki yaş grubunun serum VEGF düzeyleri benzer bulunmuştur. Bunun aksine kontrol kord kanı VEGF değerleri her iki gruptaki VEGF değerinin yaklaşık yarıısı kadardır. Kontrol grubunda VEGF düzeyi en düşük olan bireyin (Kontrol grubu ortalaması 120.7 pg/ml, vs 46.9 pg/ml) retrospektif olarak alınan öyküsünde gerek kendisi gerek ailesinde damar tıkanıklığı kökenli hastalıklar bulunması ilginçtir. Kontrol grubu VEGF düzeyi en yüksek olan bireyin (120.7 pg/ml vs 195 pg/ml) özgeçmiş ve soygeçmişinde damar tıkanıklığı öyküsü olmadığı ve orak hücreli anemi taşıyıcısı olduğu anlaşılmıştır. Metronomik kemoterapi alan hastalar ile bevacizumAb tedavisi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, metronomik kemoterapi alan hastaların VEGF düzeyleri Mann-Whitney U analizine göre anlamlı derecede yüksektir (p: 0.030). Metronomik kemoterapi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında Mann-Whitney U analizine göre anlamlı yüksektir (p: 0.0001). BevacizumAb tedavisi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında Mann-Whitney U analizine göre anlamlı yüksektir (p: 0.005). Metronomik kemoterapi alan hastalar ile bevacizumAb tedavisi alan hastaların 3 ay sonrası VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, metronomik kemoterapi alan hastaların VEGF düzeyleri Mann-Whitney U analizine göre anlamlı yüksektir (p: 0.0001). Metronomik kemoterapi alan hastalarda başlangıç ve 3 ay sonrası ortalama VEGF düzeylerindeki düşüş olmakla beraber, bu düşme Wilcoxon analizine göre anlamlı değildir (p: 0.075). BevacizumAb tedavisi alan hastalarda ise başlangıç ve 3 ay sonrası ortalama VEGF düzeylerindeki düşüş Wilcoxon analizine göre anlamlıdır (p: 0.002).

## TARTIŞMA

Konvansiyonel sitotoksik ilaçlar kanser tedavisinde maksimum tolere edilebilen dozda (MTED) kullanılabilmek için dizayn edilmişlerdir. MTED kullanılan kemoterapi sınırlı sayıdaki kanserli hastalarda şifayla, önemli sayıdaki hastada da hastalık kontrolü ile sonuçlanmasına karşın belirgin uzun ve kısa dönem komplikasyonlarına neden olmaktadır. Sitotoksik ilaçların doz kısıtlayıcı yan etkilerine ulaşmasına, dolayısıyla istirahat dönemlerine gerek kalmayacak derecede düşük dozlarda sürekli olarak verilmesiyle antikanser etkinliklerinin artırıldığı alternatif bir kullanım biçimi giderek daha çok ilgi çekmektedir. Bu kemoterapi şemaları metronomik kemoterapi olarak adlandırılmaktadır. Metronomik tedaviler tümör hücrelerine oranla çok daha yavaş proliferere olan anjiogenik endotel hücrelerini hedef alarak yetersiz neovaskülarizasyon sonucunda tümör hücrelerinin büyümesini inhibe etmektedirler. Anti-anjiogenik tedavinin kanser hastalarında faydalı olduğu ancak son zamanlarda gösterilebilmiştir (1,2,3).

VEGF, anti anjiogenik tedavinin en önemli hedefidir ve insan tümörlerinin yaklaşık %60'ı tarafından salgılanır. Kanserli hastalar uzun süre yaşadıklarında tümör hücre mutasyonuna bağlı bol miktarda anjiogenik proteinin ortaya çıkma riski vardır. Örneğin; meme kanserlerinin çoğu tanı anında sadece VEGF salgılamalarına karşın özellikle nüks meme kanserleri yaklaşık 5'e yakın farklı anjiogenik protein salgırlar. Anjiogenez inhibitörleri endotel hücrelerine etki ederek tümör progresyonunu engellemektedir. Bu çalışmada anjiogenez inhibitörlerinin endotel hücreleri üzerinden etki etmelerinin sonuçları, güçlü bir anjiogenez belirteci olan serum VEGF seviyesinin metronomik kemoterapi ve bevacizumAb (Avastin) tedavisi alan hastalar üzerinde çalışılması ile gözlemlenebilmesi amaçlanmıştır. BevacizumAb tüm insan VEGF-A izoformlarını ve bioaktif proteolitik fragmentleri bağlayan ve nötralize eden bir anti-VEGF monoklonal antikordur (63).

Doğrudan tümör hücrelerini hedefleyen ilaçlara karşı gelişen sıklıkta direnç oluşmaması, tümör endotel hücrelerinin normal endotel hücrelerinden 50-100 kat daha hızlı bölünmeleri, aktif endotel hücrelerinin üzerinde bulunan fakat aktif olmayan endotel hücrelerinin üzerinde olmayan işaretlerin bulunması, yetişkinlerde anjiogenesisin sınırlı olmasından dolayı anti anjiogenik ilaçlara bağlı yan etkilerin çok az görülmesi, endotel hücrelerine kan dolaşımı ile kolay ulaşılması, birkaç mikro damarın tahrip edilmesi ile çok sayıda tümör hücresinin öldürülmesi gibi özelliklerin anti-anjiyogenik tedaviyi yakın gelecekte klasik tedavi yöntemleri arasına sokacağı tahmin edilmektedir. Bu konudaki en önemli sorun tedavi etkinliğinin klasik cevap parametreleri ile (RECİST) izlenememesidir. Çünkü RECİST parametreleri tümör dokusunun küçülmesine dayanmaktadır. Bu her zaman tümör damarlanmasının bozulmasına paralel gitmemektedir.



Çalışmaya metronomik kemoterapi alan 11 hasta (7 kadın, 4 erkek, yaş ortalamaları 55), bevacizumAb tedavisi alan 16 hasta (4 kadın, 12 erkek, yaş ortalamaları 55.1) dahil edilmiştir. Metronomik kemoterapi alan hastaların altısı meme, ikisi over, ikisi akciğer ve biri nazofarenks kanseridir. BevacizumAb tedavisi alan onaltı hastanın tamamı kolon kanseridir.

Metronomik kemoterapi alan hastalar ile bevacizumAb tedavisi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, metronomik kemoterapi alan hastaların VEGF düzeyleri anlamlı derecede yüksektir (p: 0.030). Metronomik kemoterapi alan hastalar daha geç dönemde ve daha önce çok sayıda kemoterapi almış hastalardır. Kemoterapi anjiyogenezi uyarıyor olabilir (Aktive endotel hücrelerini öldüren ilaçlı dönem ve bunu takiben 1-3 haftalık endotel hücrelerin yeniden çoğalmasına izin veren dönemlerin tekrarlanması gibi nedenlerle). Bunun aksine BevacizumAb tedavisi alan hastalar daha önce tedavi almamış hastalardır. Metronomik tedavi grubundaki başlangıç VEGF düzeyi farklılığının bir diğer nedeni bevacizumAb tedavisi alan hastalarda genellikle karaciğer metastazı, metronomik tedavi alan hastalarda ise kemik başta olmak üzere multiple organ (beyin, akciğer) metastazları görünmesi olabilir.

Metronomik kemoterapi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksektir (p: 0.0001). Benzer şekilde bevacizumAb tedavisi alan hastaların başlangıç VEGF düzeyleri sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksektir (p: 0.005).

Bu gözlemler metastatik kanserlerde VEGF salınması ve anjiyogenetik sürecin yüksek olduğu düşüncesini desteklemektedir. Metronomik kemoterapi alan hastalar ile bevacizumAb tedavisi alan hastaların 3 ay sonrası VEGF düzeyleri karşılaştırıldığında, metronomik kemoterapi alan hastaların VEGF düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p:0.0001). BevacizumAb tedavisi ile ortalama VEGF düzeyindeki düşüş 94.5 pg/ml olurken metronomik kemoterapi ile ortalama VEGF düzeyindeki düşüş 221 pg/ml' dir. Metronomik kemoterapi alan hastalarda başlangıç ve 3 ay sonrası ortalama VEGF düzeylerindeki düşüş eğilimi bulunmakla beraber bu istatistiksel olarak anlamlı değildir (p: 0.075). Ülkemizde daha önce Artaç ve arkadaşlarının metronomik siklofosfamid + etoposide kemoterapisi uygulanan sekiz metastatik meme kanserli hastada serum VEGF düzeyi düşmesi ile progresyonsuz sağkalım ilişkili bulunmuştu (69). VEGF monoklonal antikoru kullanan hasta grubu yada sağlıklı grup ile kontrolü olmayan bu çalışmadaki metastatik hastaların serum VEGF düzeyleri ortalaması tedavi öncesi 495 pq/ml iken, tedaviden 2 ay sonra ise 346 pq/ml' ye düşmüştü. Serum VEGF değerleri tezimizde ise tedavi öncesinde 520 pq/ml ve metronomik uygulamadan 3 ay sonra 299 pq/ml olarak bulunmuştur. Çalışmaya az sayıda hastanın dahil edilebilmesi ve dağılımlarındaki heterojenlik nedeni ile yapılan istatistiksel analiz anlamlı çıkmamış olabilir. Fakat metronomik kemoterapi alan bazı hastalarda başlangıç ve 3 ay sonrası ortalama VEGF düzeylerindeki düşüş klinik olarak anlamlı görünmektedir. Örneğin metronomik kemoterapiye cevap veren stabil meme kanseri hastası C.Ç.' de VEGF düzeyi 660

pg/ml' den 410 pg/ml' ye, metronomik kemoterapiye kısmi cevap veren meme kanseri hastası H.T.' de VEGF düzeyi 280.2 pg/ml' den 128.5 pg/ml' ye, küçük hücreli akciğer kanseri hastası F.S.' de VEGF düzeyi 898 pg/ml' den 197.5 pg/ml' ye gerilemiştir. Oysaki metronomik kemoterapiye cevap vermeyen meme kanseri hastası M.S.' de VEGF düzeyi 521.5 pg/ml' den 518.5 pg/ml' ye stabil kalmış, metronomik kemoterapi altında progress olan meme kanseri hastası G.B.' de VEGF düzeyi 450.5 pg/ml' den 676 pg/ml' ye yükselmiştir. Metronomik kemoterapi altında progress olan küçük hücreli akciğer kanseri hastası H.U.' da ise 202 pg/ml' den 160.4 pg/ml' ye bir miktar gerilemiştir. Metronomik kemoterapi alan hastalarda, hasta klinik verileri ile VEGF düzeyleri arasındaki ilişki eğilimi var gibi görünmektedir. Bu konu metronomik kemoterapi tedavi etkinliğinin tedavi öncesi ve sonrası VEGF parametreleri ile izlenebileceği fikrini desteklemektedir ve daha çok sayıda hasta ile araştırılmayı hakeder görünmektedir.

BevacizumAb tedavisi alan hastalarda başlangıç ve 3 ay sonrası ortalama VEGF düzeylerindeki düşüş anlamlıdır (p: 0.002). Benzer biçimde bevacizumAb tedavisine yanıt veren hastalarda da VEGF düzeylerinde düşüş kaydedilmiştir. Metronomik kemoterapide olduğu gibi bevacizumAb tedavisinin etkinliğinin tedavi öncesi ve sonrası VEGF parametreleri ile izlenebileceği olası görünmektedir. Bununla beraber VEGF düzeyi normal sınırlarda olan ( $150 \pm 50$  pg/ml) hastalarda anti-VEGF tedavisinin uygulanması soru işaretidir. Anti-VEGF monoklonal antikor tedavisinin pahalı bir uygulama olması nedeniyle etkili olmayacağı hasta alt gruplarının daha iyi belirlenmesi ile bu problemler ortadan kalkacak gibi görünmektedir.

Yeni anti-VEGF tedavilerinin malignitelerin tedavisi için geliştirilmesi ve formülize edilmesi devam etmektedir. Örneğin anti -VEGF monoklonal antikor, çözünür Flt-1, anti-KDR kinaz (SU 5416 ve SU 6668) ve anti-KDR veya anti-Flt-1 antikoru şimdiye kadar çalışılan anti-VEGF ajanlarıdır (25). Çalışmamızda oluşan metastatik tümörlerdeki anjiyogenez sürecinin basit ve ucuz serum VEGF düzeyi tayini ile izlenebileceği kanaati gerek anti-VEGF monoklonal antikorları ve metronomik tedavilerin, gerekse thalidomit, lemidomit (hatta anjiyogenezi hedeflediği söylenen bazı alternatif yöntemlerinin) gibi anjiyogenetik süreci etkileyen tüm tedavilerde etkinlik takibi çalışmalarında denenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada şu gözlemler yapılmıştır;

- 1) Metronomik tedavi alan metastatik tümörlü hastaların tedavi öncesi VEGF düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksektir.
- 2) BevacizumAb + kemoterapi alan metastatik tümörlü kolon kanserli hastaların tedavi öncesi VEGF düzeyleri sağlıklı kontrollerden yüksektir.
- 3) Metronomik tedavi alan daha önce birden fazla kemoterapi almış hastaların VEGF düzeyleri bevacizumAb alan daha önce kemoterapi almamış hastalardan daha yüksektir.
- 4) BevacizumAb ve metronomik tedavi ile VEGF düzeyleri düşmüştür.

## KAYNAKLAR

- 1) Folkman J. Antiangiogenesis Inhibitors. In: Cancer Principles and Practice of Oncology (editors DeVita VT, Helman S, Rosenberg SA; Philadelphia, Lippincott) 2005; Chapter 63.
- 2) Ellis LE. Integrating molecular oncology into clinical practice: Antiangiogenic therapy. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23: 937-938.
- 3) Relf M, Lejeune S, Scott PA, Fox S, Smith K, Leek R, Moghaddam A, Whitehouse R, Bicknell R and Harris AL. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer Research* 1997;57:963-969.
- 4) Margolin JF, Poplack DG: Acute lymphoblastic leukemia. In: Principles and Practice of Pediatric Oncology (ed.3; editors Pizzo PA, Poplack DG; Philadelphia, Lippincott-Raven)1997; 409-461.
- 5) Rubie H., Coze C., Plantaz D., Munzer C. Localised and unresectable neuroblastoma in infants: excellent outcome with low dose primary chemotherapy. *British Journal of Cancer* 2003; 89: 1605-1609.
- 6) Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Finklestein JZ, Grundy P, Thomas PR, Kim T, Shochat S, Haase G, Ritchey M, Kelalis P and D'Angio GJ. Effect of duration of treatment on treatment outcome and cost of treatment for Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Group. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16: 3744-3751.
- 7) Harubumi K, Yukito I, Morio O, Enjo H, Noriaki T, Hirohito T, Yoh W, Hiromi W, Masahiro T, Nobuyuki H, Mitsuo O. for the Japan Lung Cancer Research Group on Postsurgical Adjuvant Chemotherapy. A randomized trial of adjuvant chemotherapy with uracil-tegafur for adenocarcinoma of the lung. *New England Journal of Medicine* 2004; 350: 1713-1721.
- 8) Munoz R, Shaked Y, Bertolini F, Emmenegger U, Man S, Kerbel RS. Anti-angiogenic treatment of breast cancer using metronomic low-dose chemotherapy. *Breast* 2005;14:466-479.
- 9) Munoz R, Man S, Shaked Y, Lee CR, Wong J, Francia G, Kerbel RS. Highly efficacious nontoxic preclinical treatment for advanced metastatic

breast cancer using combination UFT-cyclophosphamide metronomic chemotherapy. *Cancer Research* 2006;66(7):3386-3391.

- 10) Garcia AA, Oza AM, Hirte H, Fleming G, Wei DT, Roman L, Swenson S, Gandara D, Scudder S, Morgan R. Interim report of a phase II clinical trial of bevacizumab and low dose metronomic oral cyclophosphamide in recurrent ovarian and primary peritoneal carcinoma: A California Cancer Consortium Trial. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 5000.
- 11) Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarity between tumor stroma generation and wound healing. *The New England Journal of Medicine* 1986;315:1650–1658.
- 12) Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis: implications for tumor stroma generation and wound healing. *Laboratory Investigation* 1987;57:673–686.
- 13) Melder RJ, Koenig GC, Witwer BP, Safabakhsh N, Munn LL, Jain RK. During angiogenesis, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor regulate natural killer cell adhesion to tumor endothelium. *Nature Medicine* 1996;2:992–997.
- 14) Sasaki A, Melder RJ, Whiteside TL, Herberman RB, Jain RK. Preferential localization of human adherent lymphokine-activated killer cells in tumor microcirculation. *Journal of National Cancer Institute* 1991;83:433–437.
- 15) Gabrilovich DI, Chen HL, Girgis KR, Cunningham HT, Meny GM, Nadaf S, Kavanaugh D, Carbone D. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nature Medicine* 1996;2:1096–1103.
- 16) Ferrara N and Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews* 1997;18:4-25.
- 17) Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442–447.
- 18) Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis-dependent? *Journal of National Cancer Institute* 1997; 82:4–6.
- 19) Weidner N, Semple JP, Welch W, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis. Correlation in invasive breast carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1991; 324:1–8.
- 20) Wakui S, Furusato M, Sasaki H, Akiyama A, Kinoshito I, Asano K, Tokuda T, Aizawa S, Ushigome S. Tumor angiogenesis in prostatic carcinoma with and without bone metastasis: a morphometric study. *Journal of Pathology* 1992;168:257–262.

- 21) Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularization to metastasis of non-small cell lung carcinoma. *Lancet* 1992;340:145–146.
- 22) Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Trends in Cardiovascular Medicine* 1993; 3:244 –250.
- 23) Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fahrig M, Vandenhoeck A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Moons L, Collen D, Risau W, Nagy A. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380:435– 439.
- 24) Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O’Shea KS, Powell-Braxton L, Hillan KJ, Moore MW. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996;380:439–442.
- 25) Shibuya M. Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. *Cell Structure and Function* 2001;26:25-35.
- 26) Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis *in vitro*. *Biochemical Biophysical Research Communications* 1992;189:824–831.
- 27) Nicosia RF, Nicosia SV, Smith M. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor and insulin-like growth factor-1 promote rat aortic angiogenesis *in vitro*. *American Journal of Pathology* 1994;145:1023–1029.
- 28) Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor type 1 in microvascular endothelial cells. *Biochemical Biophysical Research Communications* 1991;181:902–908.
- 29) Unemori EN, Ferrara N, Bauer EA, Amento EP. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *Journal of Cellular Physiology* 1992;153:557–562.
- 30) Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cells of Different Development* 1990;32:319 –331
- 31) Mandriota S, Montesano R, Orci L, Seghezzi G, Vassalli J-D, Ferrara N, Mignatti P, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor increases urokinase receptor expression in vascular endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270:9709 –9716.

- 32) Roberts WG, Palade G. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *Journal of Cell Science* 1995;108:2369–2379.
- 33) Pekala P, Marlow M, Heuvelman D, Connolly D. Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor-alpha, but not by insulin. *Journal of Biological Chemistry* 1990;265:18051–18054.
- 34) Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, Brett J, Wang F, Familletti PC, Pan Y-C, Olander JV, Connolly DT, Stern D. Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *Journal of Experimental Medicine* 1990;172:1535–1545.
- 35) Broxmeyer HE, Cooper S, Li ZH, Song HY, Kwon BS, Warren RS, Donner DB. Myeloid progenitor cells regulatory effects of vascular endothelial growth factor. *International Journal of Hematology* 1995;62:203–215.
- 36) Yang R, Thomas GR, Bunting S, Ko A, Keyt B, Ferrara N, Ross J, Jin H. Effects of VEGF on hemodynamics and cardiac performance. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1996;27:838–844.
- 37) Cuevas P, Garcia-Calvo M, Carceller F, Reimers D, Zazo M, Cuevas B, Munoz-Willery I, Martinez-Coso V, Lamas S, Gime-nez-Gallego G. Correction of hypertension by normalization of endothelial levels of fibroblast growth factor and nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1996;93:11996–12001.
- 38) Otrrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: Review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2007;38:258-268.
- 39) Salven P, Lymboussaki A, Heikkilä P, Joensuu H, Enholm B. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumors. *American Journal of Pathology* 1998;153:103-108.
- 40) Mould AW, Tanks ID, Cahil MM, Pettit AR, Thomas R, Hayward NK, Kay GF. *Vegfb* gene knockout mice display reduced pathology and synovial angiogenesis in both antigen-induced and collagen-induced models of arthritis. *American College of Rheumatology* 2003;48:2660-2669.
- 41) Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jelthsch M, Welsh LC, Cao Y, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. Proteolytic processing regulates receptor

specificity and activity of VEGF-C The EMBO Journal 1997;16:3898-3911.

- 42) Ferrara N, Gerber H-P, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine* 2003;9:669-676.
- 43) Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989;246:1306-1309.
- 44) Barleon B, Sozzani S, Zhou D, Weich HA, Mantovani A and Marme D. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996;87:3336-3343.
- 45) Chen WS, Kitson RP, Goldfarb RH. Modulation of human NK cell lines by vascular endothelial growth factor and receptor VEGFR-1 (FLT-1). *In Vivo* 2002;16:439-445.
- 46) LeCouter J, Moritz DR, Li B, Phillips GL; Liang XH, Gerber H-P, Hillan KJ, Ferrara N. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGFR-1. *Science* 2003;299:890-893.
- 47) Hattori K, Heissig B, Wu Y, Dias S, Tejada R, Ferris B, Hicklin DJ, Zhu Z, Bohlen P, Witte L, Hendrikx J, Hackett NR, Crystal RG, Moore MAS, Werb Z, Lyden D and Rafii S. Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1<sup>+</sup> stem cells from bone-marrow microenvironment. *Nature Medicine* 2002;8:841-849.
- 48) Lamszus K, Ulbricht U, Matschke J, Brockmann MA, Fillbrandt R and Westphal M. Levels of soluble vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 1 in astrocytic tumors and its relation to malignancy, vascularity, and VEGF-A. *Clinical Cancer Research* 2003;9:1399-1405.
- 49) Toi M, bando H, Ogawa T, Muta M, Hornig C, Weich HA. Significance of vascular endothelial growth factor (VEGF)/soluble VEGF receptor-1 relationship in breast cancer. *International Journal of Cancer* 2002;98:14-18.
- 50) Gille H, Kowalski J, Li B, LeCouter J, Moffat B, Zioncheck TF, Pelletier N and Ferrara N. Analysis of Biological Effects and Signaling Properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). *Journal of Biological Chemistry* 2001;276:3222-3230.
- 51) Vosseler S, Mirancea N, Bohlen P, Mueller MM, Fusenig NE. Angiogenesis inhibition by vascular endothelial growth factor receptor-2 blockade reduces stromal matrix metalloproteinase expression, normalizes



stromal tissue, and reverts epithelial tumor phenotype in surface heterotransplants. *Cancer Research* 2005;65:1294-1305.

- 52) Li J, Huang S, Armstrong EA, Fowler JF, Harrari PM. Angiogenesis and radiation response modulation after vascular endothelial growth factor receptor-2 ( VEGFR2) blockade. *International Journal of Radiation Oncology\* Biology\* Physics* 2005;62:1477-1485.
- 53) Chen L, Hamrah P, Cursiefen C, Zhang Q, Pytowski B, Streilein JW, Dana MR. Vascular endothelial growth factor receptor-3 mediates induction of corneal alloimmunity. *Nature Medicine* 2004;10:813-815.
- 54) Jennbacken K, Vallbo C, Wang W and Damber JE. Expression of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and VEGF receptor-3 in human prostate cancer is associated with regional lymph node metastasis. *Prostate* 2005;65:110-116.
- 55) He Y, Rajantie I, Pajusola K, Jeltsch M, Holopainen T, Yla HS, Harding T, Jooss K, Takahashi T, Alitalo K. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Research* 2005;65:4739-4746.
- 56) Gagnon ML, Bielenberg DR, Gechtman Z, Miao HQ, Takashima S, Soker S, Klagsbrun M. Identification of a natural soluble neuropilin-1 that binds vascular endothelial growth factor: *In vivo* expression and antitumor activity. *National Academy of Sciences of the USA* 2000;97:2573-2578.
- 57) Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993;362:841-844.
- 58) Klement G, Baruchel S, Rak J, Man S, Clark K, Hicklin DJ, Bohlen P, Kerbel RS. Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity. *Journal of Clinical Investigation* 2000;105:15-24.
- 59) Lee CG, Heijn M, Tomaso E, Etienne GG, Ancukiewicz M, Koike C, Park KR, Ferrara N, Jain RK, Suit HD, Boucher Y. Anti-vascular endothelial growth factor treatment augments tumor radiation response under normoxic or hypoxic conditions. *Cancer Research* 2000;60:5565-5570.
- 60) Kabbinnavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2003;21:60-65.

- 61) Smolich BD, Yuen HA, West KA, Giles FJ, Albitar M and Cherrington JM. The antiangiogenic protein kinase inhibitors SU5416 and SU6668 inhibit the SCF receptor (c-kit) in a human myeloid leukemia cell line and in acute myeloid leukemia blasts. *Blood* 2001;97:1413-1421.
- 62) Dias S, Hattori K, Zhu Z, Heissig B, Choy M, Lane W, Wu Y, Chadburn A, Hyjek E, Gill M, Hicklin DJ, Witte L, Moore MAS, Rafii S. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *Journal of Clinical Investigation* 2000;106:511-521.
- 63) Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005;333:328-335.
- 64) Bocci G, Francia G, Man S, Lawler J, Kerbel RS. Thrombospondin 1, a mediator of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy. *Proceedings National Academy of Sciences U S A.* 2003;100(22):12917-12922.
- 65) Mancuso P, Burlini A, Pruneri G, Goldhirsch A, Martinelli G, Bertolini F. Resting and activated endothelial cells are increased in the peripheral blood of cancer patients. *Blood.* 2001; 97(11): 3658-3661.
- 66) Mancuso P, Colleoni M, Calleri A, Orlando L, Maisonneuve P, Pruneri G, Agliano A, Goldhirsch A, Shaked Y, Kerbel RS, Bertolini F. Circulating endothelial-cell kinetics and viability predict survival in breast cancer patients receiving metronomic chemotherapy. *Blood.* 2006;108(2):452-459.
- 67) Philpott NJ, Turner AJ, Scopes J, Westby M, Marsh JC, Gordon-Smith EC, Dalglish AG, Gibson FM. The use of 7-amino actinomycin D in identifying apoptosis: simplicity of use and broad spectrum of application compared with other techniques. *Blood.* 1996;87:2244-2251.
- 68) Po-Nien T, Shu-Chen W, Hung-Chieh C, Yi-Ning S, Chien-Yi C, Fon-Jou H, Wu-Shiun H. Vascular endothelial growth factor in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Pediatric Pulmonology* 2005;39:461-465.
- 69) Artac M, Bozcuk H, Afacan B, Ozdogan M, Timur M, Yildiz M, Samur M, Savas B. Metronomic cyclophosphamide-etoposide chemotherapy and serum VEGF level metastatic breast cancer patients. *Annals of Oncology* 2006;17:86-87.

## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Ankara' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2000 yılında Gazi Üniversitesi Sağlık Hiz. Mes. Yük. Ok. Tıbbi Laboratuvar bölümünden Sağlık Teknikeri ünvanı ile mezun oldu. 2004 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Biyolog ünvanı ile mezun oldu. 2005 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları AD Onkoloji BD' da Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi yüksek lisans programına kabul edildi. 2005 yılında aynı enstitüye Araştırma Görevlisi olarak atandı. Halen Araştırma Görevlisi ünvanı ile çalışmaktadır.